FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNEE 1963 No 27

THESE

PRESENTEE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

PAR

PFERSCH Claude Philippe

Né à PARIS (Seine)

le 2 septembre 1936

ETUDE HISTOCHIMIQUE DU DÉVELOPPEMENT CHEZ LA SOURIS DE QUELQUES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES D'OXYDATION DANS LA RÉTINE NORMALE ET DANS DES RÉTINES ATTEINTES D'UNE DÉGÉNÉRESCENCE HÉRÉDITAIRE

Président: Mr M. KLEIN, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNEE 1963 *No 27*

THESE

PRESENTEE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

PAR

PFERSCH Claude Philippe

Né à PARIS (Seine)

le 2 septembre 1936

ETUDE HISTOCHIMIQUE DU DÉVELOPPEMENT CHEZ LA SOURIS DE QUELQUES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES D'OXYDATION DANS LA RÉTINE NORMALE ET DANS DES RÉTINES ATTEINTES D'UNE DÉGÉNÉRESCENCE HÉRÉDITAIRE

Président: Mr M. KLEIN, Professeur

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTE DE MEDECINE DE STRASBOURG

	MM.
Doyen	FONTAINE
Doyen honoraire	CALLOT
Assesseur	CALLOT

- PROFESSEURS TITULAIRES -

Anatomie	MEYER
Anatomie Pathologique	N...
Biologie Médicale	KLEIN
Chimie Biologique	MANDEL
Embryologie	CLAVERT
Histologie	ARON M.
Histologie	ARON Cl.
Hématologie	WAITZ
Hygiène et Bactériologie	TULASNE
Médecine Légale et Médecine Sociale	CHAUMONT
Parasitologie et Médecine Tropicale	CALLOT
Pharmacologie et Médecine Expérimentale	SCHMID
Physiologie	KAYSER
Physiologie Appliquée	METZ
Physique Biologique	CHEVALLIER
Clinique Chirurgicale A	FONTAINE
Clinique Chirurgicale B	WEISS
Clinique Médicale A	WARTER
Clinique Médicale B	STAHL
Clinique Dermatologique	WORINGER
Clinique de Pédiatrie et Puériculture	SACREZ
Clinique Neurologique	THIEBAUT
Pathologie Nerveuse et Electroencéphalographie	ROHMER
Clinique Gynécologique et d'Accouchement	BURGER
Clinique Ophtalmologique	NORDMANN
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	GREINER
Chaire de Clinique de Pneumo-Phtisiologie	OUDET
Clinique Psychiatrique	KAMMERER
Pathologie Chirurgicale	JUNG
Chaire de Thérapeutique	METZGER
Chaire d'Electro-Radiologie	GROS
Pathologie Expérimentale	STEPHAN
Stomatologie	VEDRINE
Hydrologie	N...

- PROFESSEURS SANS CHAIRE -

Physiologie	MARX
Anatomie	WINCKLER
Anatomie Pathologique	LE GAL
Hygiène et Bactériologie	MINCK
Histologie	MARESCAUX
Hématologie	MAYER G.
Biologie Médicale	KARLI
Anatomie Pathologique	BATZENSCHLAGER
Anatomie Normale	KORITKE
Chimie Biologique	WEILL J.D.

- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES -

MM. APROSIO
CHAMBON
CHAMBRON
ISCH
KIRN
LAVILLAUREIX
SCHAFF
SCHNEEGANS
WARTER P.

- A G R E G E S -

MM. BOCKEL
BOLLACK
BRONNER
BURGHARD
CHAMPY
DORNER
FINCKER
FRANK
GANDAR
GRENIER
HOLLENDER
ISRAEL
JAHN
JUIF
KIENY
KLOTZ
LEVY J.M.
MANTZ
MARCOUX
MEHL
MULLER J.N.
MULLER P.
SCHWARTZ
WEILL J.P.
WITZ
SIBILLY

- AGREGES LIBRES -

MM. BUCK, FORSTER, KUHLMANN D., KUNTZMANN, VOEGTLIN, BEYER.

- DIRECTEUR DE L'INSTITUT DENTAIRE -

M. VEDRINE

- CHARGES D'UN COURS D'ENSEIGNEMENT COMPLEMENTAIRE -

MM. MATHIS, MEHL J., MOISE, MUGLER A., SINGER, TISSIER, Mme MAYER S.

- PROFESSEURS HONORAIRES -

MM. BARRE
BENOIT
HANNS
REDSLOB
ROHMER
ROEDERER
VAUCHER
VINTEMBERGER

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ni les approuver, ni les improuver.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs, ni à favoriser les crimes.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobe et méprisé de mes confrères si j'y manque.

-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552711_0034

ETUDE HISTOCHIMIQUE DU DEVELOPPEMENT CHEZ LA SOURIS DE QUELQUES ACTIVITES ENZYMATIQUES D'OXYDATION DANS LA RETINE NORMALE ET DANS DES RETINES ATTEINTES D'UNE DEGENERESCENCE HEREDITAIRE

- I N T R O D U C T I O N -

Connues depuis l'antiquité par les troubles visuels qu'elles entraînent, les dégénérescences rétiniennes spontanées ne furent vraiment étudiées qu'après la découverte de l'ophtalmoscope. C'est à Van TRIGT, en 1853, que revient le privilège d'en avoir donné la première description ophtalmoscopique. Peu à peu, grâce aux investigations cliniques et anatomo-pathologiques, s'est édifié un cadre nosologique, dont la rétinite pigmentaire, maladie héréditaire et familiale, est le prototype.

Le nombre croissant des cas observés et l'amélioration des moyens d'investigation ont permis de se rendre compte qu'un certain nombre d'autres maladies étaient apparentées à la rétinite pigmentaire, notamment la rétinite ponctuée albescente et les dégénérescences maculaires héréditaires (François, 1958).

On a remarqué d'autre part que ces atteintes dégénératives rétiniennes étaient fréquemment associées à des dégénérescences du système nerveux central et des tissus endocriniens. Il est donc apparu que la dégénérescence rétinienne n'était que l'un des aspects d'une dégénérescence plus générale atteignant l'organisme, d'une "abiotrophie".

Ce phénomène est caractérisé par une sénilité précoce et une mort rapide de cellules normalement différenciées, sans qu'interviennent des influences exogènes de nature inflammatoire, traumatique ou toxique. Cette mort cellulaire a d'autant plus de chances de toucher une catégorie de cellules, que celle-ci est plus hautement différenciée.

Pendant très longtemps ces modifications tissulaires par dégénérescence spontanée ne furent étudiées que du point de vue morphologique. Il ne faut cependant pas perdre de vue que ces altérations dégénératives ne sont que le résultat tardif d'un processus pathologique continu, interférant avec la fonction cellulaire et aboutissant à sa mort.

Il est donc apparu de plus en plus clairement que ces modifications ont leur origine dans une viciation des mécanismes chimiques de l'activité cellulaire.

Dans le cas des dégénérescences tapéto-rétiniennes le problème pathogénique reste entier. Deux hypothèses peuvent être envisagées :

- dans la première, l'involution rétinienne serait la conséquence d'une atteinte primaire du neuro-épithélium, d'une abiotrophie de la cellule visuelle.
- dans la seconde par contre, la dégénérescence rétinienne serait consécutive à un trouble nutritionnel par atteinte de la choriocapillaire ou de l'épithélium pigmentaire, intermédiaire important dans la nutrition des couches rétiniennes externes, avasculaires.

Chez l'Homme, la rétinite pigmentaire apparaît comme une dégénérescence rétinienne d'étiologie inconnue, associée à une héméralopie et à un déficit caractéristique du champ visuel. C'est une maladie héréditaire et familiale.

Les symptômes cliniques sont caractérisés par une héméralopie qui progressivement aboutit à une vision diurne défectueuse. Ces symptômes peuvent précéder l'apparition des modifications ophtalmoscopiques. A ce stade, les tests d'adaptation à l'obscurité montrent une augmentation des

seuils photopiques et scotopiques (ZEAVIN et WALD, 1956).

A la périmétrie, on met en évidence un scotomie annulaire englobant les isoptères compris entre 30° et 50° du point de fixation. D'abord morcellé, ce scotome va devenir complet et s'étendre vers la périphérie et le centre. La constriction du champ visuel aboutit à l'épargne temporaire d'une petite zone centrale encore fonctionnelle, permettant une vision tubulaire. Mais finalement cet îlot central de vision sera également perdu et le malade devient aveugle (DUKE - ELDER, 1954).

Débutant le plus souvent déjà dans l'enfance, l'évolution de cette maladie s'étendra sur de longues années pour aboutir, dans la forme commune, à la cécité vers la cinquantaine.

Dans la majorité des cas, la transmission se fait suivant le mode héréditaire récessif. De nombreux arbres généalogiques publiés montrent également la possibilité d'une transmission suivant le mode dominant. Dans les cas récessifs, touchant préférentiellement les mâles, le taux de consanguinité des parents est élevé (20 à 30% suivant WAARDENBURG) et l'association à une surdité ou surdi-mutité, à des troubles fonctionnels du système nerveux central et à des troubles psychiques, est fréquente. Des cas à transmission liée au sexe sont également connus.

Les modifications ophtalmoscopiques sont caractérisées par un trouble de la pigmentation rétinienne et par un rétrécissement des vaisseaux. Le trouble pigmentaire, surtout marqué dans la région équatoriale, se traduit par l'apparition de petites taches pigmentées, de forme et de répartition irrégulières, souvent comparées à l'aspect des ostéoblastes. Progressivement ces petits amas pigmentés vont

s'étendre vers la périphérie, mais aussi vers le pôle postérieur, en même temps que la choroïde subit une atrophie.

Le rétrécissement généralisé des vaisseaux rétiniens est le deuxième fait caractéristique. Dans certains cas il peut être tellement intense que les artères et les veines ne peuvent être suivies que sur une faible distance à partir de la papille. L'atrophie optique, donnant à la papille un aspect grisâtre ou jaunâtre, vient, après un certain temps d'évolution, compléter ce tableau.

Dans la grande majorité des cas les deux yeux sont atteints de façon plus ou moins égale. Cependant des cas de rétinite pigmentaire unilatérale ont été publiés.

Les modifications de l'ERG sont encore plus caractéristiques que celles du fond d'oeil et du champ visuel. Pour beaucoup d'auteurs le tracé ERG disparaît très tôt, même dans les formes peu sévères (FRANCOIS, VERRIEST et DEROUCK, 1956; FRANCESCHETTI et DIETERLE, 1957; KARPE, 1958). Pour d'autres il existerait un tracé, mais il serait fortement perturbé quant à la forme et à l'amplitude des différentes composantes (GOODMAN et GUNKEL, 1958; RUEDEMANN et NOELL, 1959). Ces modifications de l'ERG sont beaucoup plus précoces que les lésions ophtalmoscopiques et périmétriques, car les potentiels ERG peuvent être fortement diminués ou même abolis avant l'apparition de toute autre manifestation de la maladie. La composante scotopique est toujours atteinte. La composante photopique, bien qu'anormale, ne montre de modifications pathologiques que plus tard dans l'évolution. Plus récemment, ARMINGTON, GOURAS, TEPAS et GUNKEL (1962) ont montré que par une nouvelle technique de sommation électronique on arrivait à enregistrer des potentiels ERG, de faible amplitude, dans les cas même très évolués

de rétinite pigmentaire.

Les perturbations précoces du tracé ERG montrent que dans la rétinite pigmentaire les lésions initiales se font au niveau du neuro-épithélium, alors que les remaniements pigmentaires et le rétrécissement vasculaire ne sont que des phénomènes secondaires.

Les premières modifications histologiques sont la destruction et la disparition du neuro-épithélium et en particulier des bâtonnets. Ces lésions débutent dans la région équatoriale. Progressivement dans toute la rétine les cellules nerveuses disparaissent et sont remplacées par une prolifération de tissu glial. Pendant longtemps les cellules ganglionnaires et les fibres optiques restent normales, mais elles finissent également par présenter des lésions dégénératives. La disparition des cônes et des bâtonnets et la fragmentation de l'épithélium pigmentaire permettent l'adhérence de la limitante externe à la membrane de Bruch, ou la formation entre ces deux membranes d'une couche de fibres et de cellules gliales, s'étendant parallèlement à la rétine. L'épithélium pigmentaire, aminci à certains endroits, est hyperplasié à d'autres. Ses cellules, dont la charge en pigment devient très irrégulière, ont tendance à migrer et à s'éparpiller dans les tissus avoisinants. Elles vont en particulier se disposer autour des vaisseaux des couches rétiniennes internes, formant les engainements vasculaires pigmentés que l'on observe à l'ophtalmoscope. La prolifération du tissu glial et en particulier celle des fibres de MULLER, aboutit à la formation de colonnes fibreuses, épaississant la limitante interne et divisant la rétine en logettes irrégulières. A terme de cette évolution, il ne reste de la rétine qu'une couche de tissu fibreux contenant

quelques noyaux plus ou moins pycnotiques. Les vaisseaux montrent un épaississement de leur adventice, qui progressivement aboutit à leur oblitération. La sclérose des vaisseaux choroïdiens ne présente aucun caractère spécifique et n'apparaît qu'après la dégénérescence rétinienne (BALLANTYNE et MICHAELSON, 1962).

Dans cette affection, si bien définie cliniquement et histologiquement, le problème pathogénique reste entier. Pour des raisons méthodologiques évidentes, la clinique peut difficilement prétendre résoudre à elle seule ce problème. De nombreux auteurs se sont donc tournés vers les rétinoses apparaissant de façon spontanée chez diverses espèces animales, dans l'espoir que leurs recherches fassent progresser l'étude des rétinoses humaines.

I. - DEGENERESCENCES SPONTANEES DE LA RETINE CHEZ L'ANIMAL.

Elles sont connues et décrites chez un grand nombre d'animaux. Nous ne ferons que mentionner les lésions dégénératives rétiniennes décrites par MANN et collaborateurs (1946) chez le Lapin et par THOMSON (1951) chez le Furet.

Nous décrirons plus longuement les rétinoses étudiées chez le Chien, chez le Rat et chez la Souris.

Ce sont des affections héréditaires, bilatérales et symétriques, dans lesquelles on peut suivre l'évolution de la dégénérescence rétinienne, régulièrement progressive.

1 - Rétinose spontanée chez le Chien.

Depuis le début du siècle on connaît chez le Chien un syndrome ophtalmologique caractérisé par une baisse de la vision, d'abord nocturne, puis diurne (HODGMAN, PARRY, RASBRIDGE et STEEL, 1949). MAGNUSSON fut le premier à décrire la maladie chez six Setters importés de Grande-Bretagne en Suède. Par une étude histologique des rétines de ces chiens il a montré que l'affection était due à une atrophie progressive et généralisée du neuro-épithélium (MAGNUSSON, 1917). PARRY, en 1953, et LUCAS, 1954, ont repris l'étude de cette dégénérescence rétinienne spontanée chez le SETTER Irlandais.

Les premières manifestations cliniques sont caractérisées par une mydriase bilatérale, une vision nocturne défectueuse et par l'apparition d'un reflet pupillaire verdâtre, au lieu du reflet jaune - orange habituel.

L'évolution de cette affection peut être divisée en trois phases, caractérisées du point de vue fonctionnel par une perte progressive de la vision nocturne, suivie d'une perte de la vision diurne.

La première phase, d'une durée de 2 à 9 mois, débute par l'apparition au niveau de la granuleuse externe de quelques noyaux pycnotiques, entre le 15e et le 20e jour après la naissance de l'animal. Ces noyaux pycnotiques, peu nombreux au début, montrent une chromatine dense et fortement colorable. Progressivement le nombre des noyaux atteints va en augmentant. La différenciation régulière de l'article externe des cônes et des bâtonnets ne se fait pas. Au cours de cette période, les bâtonnets disparaissent en même temps que leurs noyaux, entraînant de ce fait un amincissement de plus en plus grand de la granuleuse externe qui, à la fin de cette phase, ne présente plus que 2 à 3 assises nucléaires. Parallèlement se développe une héméralopie, sans déficit notable de la vision diurne.

La seconde phase, s'étendant sur 3 à 24 mois, est caractérisée par une perte progressive de la vision diurne. Durant cette période on assiste à la désintégration et à la disparition des cônes et de leurs noyaux, et la limitante externe vient au contact de l'épithélium pigmentaire, dont les cellules s'applatissent et perdent leur pigment. Les couches internes de la rétine restent apparemment normales.

Au cours de la 3e et dernière phase, la vision diurne se perd, de sorte que l'animal devient complètement aveugle. Le FO de ces chiens montre des plages irrégulières de pigmentation et un rétrécissement des vaisseaux rétiniens avec oblitération et disparition des fines ramifications vasculaires. Les papilles sont atrophiques. Bientôt s'ins-

talle une cataracte, rendant toute observation ophtalmoscopique impossible. Du point de vue histologique la rétine montre une désintégration complète par prolifération du tissu glial. Il ne subsiste plus qu'une seule assise nucléaire, dont les noyaux sont disséminés dans l'enchevêtrement des fibres gliales. L'épithélium pigmentaire est désorganisé, ses cellules ayant migré dans l'épaisseur du tissu rétinien. La choricapillaire est considérablement amincie et montre des anastomoses directes avec les vaisseaux rétiniens.

Quelques faits particuliers doivent être notés :

- L'évolution de cette affection se fait plus ou moins rapidement suivant les cas. Aucune rémission spontanée n'a jamais été signalée.
- Le développement morphologique de ces animaux est absolument normal. On a cependant pu noter un certain manque d'intelligence chez ces chiens. Aucun trouble neurologique apparent ne peut être mis en évidence.
- La transmission héréditaire de cette affection se fait suivant le mode mendélien récessif simple. Les expériences de croisements successifs n'ont jamais montré aucune liaison au sexe ni à un autre gène.
- L'étude des tracés ERG a permis de se rendre compte que ces rétines fonctionnaient normalement avant que n'apparaisse la dégénérescence (PARRY, TANSLEY et THOMSON, 1951). Puis brusquement les potentiels ERG diminuent et disparaissent, sans que l'on puisse déjà mettre en évidence une quelconque lésion histologique.
- La choroïde ne présente de modifications visibles qu'au cours de la 3e période, sa vascularisation et celle de la rétine restant normales jusque là.

Tous ces faits ne font que renforcer l'impression d'étroite parenté qui semble exister entre cette rétinose spontanée du Chien et la rétinite pigmentaire humaine.

2 - Rétinose spontanée chez le Rat.

En 1938, BOURNE, CAMPBELL et TANSLEY décrivent chez le Rat une dégénérescence rétinienne héréditaire, se transmettant suivant le mode récessif, et soulignent l'analogie frappante qui existe du point de vue histologique avec la rétinite pigmentaire humaine.

A la naissance, la rétine du Rat, qu'elle soit normale ou atteinte de rétinose spontanée, est immature. Elle n'atteint son plein développement que vers le 17e jour après la naissance.

Les premières modifications dégénératives ne font leur apparition que vers la 3e semaine, la maturation de la rétine semblant normale jusqu'à cette date. Les lésions touchent de façon symétrique les deux yeux et évoluent pendant longtemps avec la même intensité des deux côtés.

Suivant ces auteurs, l'évolution morphologique de l'affection peut se subdiviser en 5 stades.

- Stade 1 : entre le 17e et le 21e jour après la naissance apparaît une dégénérescence des noyaux de la granuleuse externe et de l'article externe des bâtonnets, qui paraît oedémacié et se colore beaucoup plus faiblement. Ce processus dégénératif touche de façon égale toutes les parties de la rétine.
- Stade 2 : les lésions rétiniennes se poursuivent. A la 5e semaine après la naissance, on ne trouve plus aucun bâton-

net intact, alors que les cônes et leurs noyaux paraissent normaux. A la 9e semaine, la granuleuse externe a considérablement diminué d'épaisseur et ne contient plus que les noyaux des cônes, perdus dans un feutrage glial, dû à une prolifération des cellules de MULLER et du tissu de soutien.

- Stade 3 : l'épithélium pigmentaire montre des altérations importantes et en particulier un épaississement irrégulier. Ces modifications, associées à une importante prolifération fibrogliale, aboutissent à une adhérence anormale de la rétine et de l'épithélium pigmentaire. Les trousseaux fibreux, réunissant ces deux tissus, servent de fil conducteur à la migration des cellules pigmentaires.

A ce stade apparaissent aussi les premières modifications des vaisseaux rétiniens et choroïdiens, sous forme d'une colorabilité moindre et d'une apparence hyaline. C'est également à ce stade que les lésions des parties centrales de la rétine prennent le pas sur celles des régions périphériques.

- Stades 4 et 5 : la prolifération fibrogliale aboutit à un cloisonnement de la rétine, dont la structure se trouve ainsi totalement modifiée.

Les noyaux de la granuleuse interne et de la couche des cellules ganglionnaires se trouvent dispersés au sein de la masse fibreuse, qui dorénavant constitue la plus grande partie de l'épaisseur de la rétine. Les lésions vasculaires, également plus importantes à cette phase, vont entraîner une tendance marquée aux hémorragies microscopiques et macroscopiques, à tel point qu'il n'est pas rare de trouver des globules rouges tant dans la chambre antérieure que dans la chambre postérieure.

A la période terminale, après le 18e mois, il est

fréquent de voir apparaître une cataracte, dont le degré d'évolution est variable, non seulement d'un animal à l'autre, mais d'un oeil à l'autre sur le même animal.

En 1962, DOWLING et SIDMAN ont repris l'étude de cette rétinose spontanée du Rat, en insistant plus particulièrement sur les tracés ERG, la microscopie et le dosage de la rhodopsine. Ces auteurs ont ainsi pu montrer qu'en microscopie optique les premières modifications pathologiques, chez l'animal atteint de cette rétinose, sont visibles dès le 18e jour après la naissance. La couche des segments externes des cônes et bâtonnets est considérablement épaissie, formant le double de celle de l'animal témoin. La couche des articles internes a une apparence parfaitement normale à cet âge.

Ces modifications correspondent aux premières altérations de l'ERG, à savoir une discrète élévation du seuil de réponse. A l'âge de 22 jours, la couche des articles internes commence à diminuer d'épaisseur, en même temps que les noyaux de la granuleuse externe montrent les premières modifications morphologiques et tinctoriales. L'ERG présente d'importantes anomalies : forte élévation du seuil et modification de forme du tracé, qui dans l'ensemble est déprimé.

A 27 jours, la couche des articles internes montre une dégénérescence accrue. La granuleuse externe, légèrement plus mince, contient de nombreux noyaux pycnotiques.

A 40 jours, les articles internes ont disparu, alors que la granuleuse externe ne contient plus que 2 à 3 couches de noyaux. La couche des articles externes, qui s'est progressivement morcellée, ne se colore plus aussi intensément qu'auparavant. Les cellules de l'épithélium pigmentaire ont

perdu à ce stade leur arrangement régulier le long de la membrane de BRUCH et apparaissent plus volumineuses et plus irrégulières que normalement. Certaines se sont détachées et ont migré parmi les débris de la couche des articles externes.

A 60 jours, les noyaux des cellules photoréceptrices ont partiellement ou totalement disparu et sont remplacés par des cellules venant de l'épithélium pigmentaire, qui est aminci à ce stade. L'ERG ne montre plus d'onde b. Les débris provenant de la désintégration des segments externes se colorent de moins en moins et vont finir par disparaître.

Après un an, la structure de la rétine est complètement modifiée. Les couches des cellules bipolaires et ganglionnaires, bien que ne contenant plus qu'un nombre réduit de noyaux, paraissent encore normales. Les couches des articles externes et internes, ainsi que la granuleuse externe, ont totalement disparu. De ci de là on rencontre quelques cellules pigmentaires entre les noyaux des cellules bipolaires.

L'étude des coupes au microscope électronique a montré que déjà à l'âge de 12 jours après la naissance on pouvait mettre en évidence, entre l'épithélium pigmentaire et les segments externes des cônes et bâtonnets, une couche de débris provenant de la désintégration de ces segments externes.

Les dosages de la rhodopsine, effectués sur des animaux témoins et sur des animaux malades, ont permis d'objectiver le rapport étroit existant entre les phénomènes dégénératifs et la quantité de rhodopsine présente au niveau de la rétine. Jusqu'au 30e journ l'animal dystrophique a un taux de pourpre rétinien double de celui de l'aniaml normal. Mais au 40e jour, ce taux tombe brusquement et ne représente

alors plus que 50 % du taux normal. A 60 jours, la rétine dégénérée ne contient pour ainsi dire plus de rhodopsine. Ces constatations ne sont cependant valables que pour les animaux élevés à la lumière. En effet, chez les rats, qui ont grandi à l'obscurité, le pourcentage de rhodopsine est plus élevé et sa disparition se fait plus lentement, de même que la progression des lésions dégénératives, comme on a pu le constater sur des préparations histologiques faites aux différents stades de la maladie. L'obscurité joue donc un certain rôle freinateur sur l'évolution de cette dégénérescence rétinienne.

Au microscope électronique, le matériel qui s'accumule entre l'épithélium pigmentaire et les articles externes révèle une structure lamellaire, analogue à celle de ces articles externes. On a pu montrer que ces lamelles extracellulaires contenaient un pourcentage important de rhodopsine. Pour DOWLING et SIDMAN les quantités excédentaires de rhodopsine, chez l'animal dystrophique, se localiseraient au niveau de ces lamelles.

3 - Rétinose spontanée chez la Souris.

En 1923, KEELER découvre par hasard dans un élevage de souris des animaux présentant une anomalie rétinienne héréditaire, animaux qu'il appelle "rodless mice". Les rétines de ces souris montrent soit une agénésie totale, soit une hypoplasie importante des couches rétiniennes externes. Selon cet auteur il s'agit d'un arrêt du développement rétinien, à un stade donné, sans qu'intervienne le moindre phénomène dégénératif. En effet ces rétines se développent normalement jusqu'au 6e ou 7e jour après la naissance. La différenciation cellulaire n'aboutit jamais à la formation

de bâtonnets, et l'enregistrement ERG reste toujours négatif. L'activité mitotique de ces rétines décroit régulièrement à partir de la naissance. Dans ces conditions on ne peut donc pas parler de dégénérescence rétinienne.

Quatre ans plus tard, en 1927, HOPKINS décrit une affection rétinienne analogue, également chez la Souris, et la compare au caractère "rodless" de KEELER.

En 1933, COHRS décrit une "Agénésie et hypoplasie héréditaire du neuro-épithélium rétinien chez des souris albinos" et l'identifie à l'affection découverte par KEELER puis par HOPKINS. BRÜCKNER, en 1951, remarque qu'un certain nombre de souris du "Basler Laboratoriumsstamm" présentent un FO d'un blanc nacré, au lieu du rose tendre habituel, avec des papilles plus ou moins excavées et des vaisseaux très grêles. Ces animaux se caractérisent en outre par leur comportement plus incertain, plus hésitant, qui selon cet auteur permet de les distinguer à première vue des souris normales. L'examen histologique de ces rétines révèle une absence totale des cellules visuelles, c'est à dire de la granuleuse externe et de la plexiforme externe. Le reste de la rétine ainsi que la choroïde sont considérablement amincis.

Cet affection fut classée par BRUCKNER dans le groupe des hypoplasies rétiniennes. En réalité ces souris de "Basler Laboratoriumsstamm" sont atteintes, non d'une dysgénésie du neuro-épithélium visuel, mais d'une dégénérescence rapide et progressive des couches rétiniennes externes, dégénérescence qui s'apparente à celle décrites dhez le Chien et chez le Rat, et qui, comme ces dernières, se transmet suivant le mode mendélien récessif (TANSLEY, 1951 et 1954; KARLI, 1952; SORSBY et coll. 1954; DI PAOLO et NOELL, 1962).

Comme chez le Rat, la rétine des souris est immature à la naissance, se composant d'une couche de fibres nerveuses, d'une couche de cellules ganglionnaires et d'une épaisse couche de cellules indifférenciées présentant une intense activité mitotique dans la partie externe. Chez les animaux atteints de cette affection dégénérative, la rétine se développe normalement jusqu'au 10e jour après la naissance, date à laquelle commence la différenciation des articles externes des bâtonnets. A ce moment on voit apparaître les premières caryopycnoses au niveau de la granuleuse externe, sous forme d'une colorabilité plus intense et d'un agencement en mottes grossières de la chromatine des noyaux. Cette affection, toujours bilatérale et symétrique, évoluant suivant une chronologie bien définie (KARLI, 1952), va rapidement aboutir à la fonte totale de la granuleuse externe. En effet le nombre des noyaux se réduit progressivement et, après une dizaine de jours, il ne reste de cette couche externe qu'une seule assise nucléaire, dont les noyaux sont eux aussi atteints en partie. Des articles internes des bâtonnets, qui jusque là paraissaient normaux, il ne subsiste au 2oe jour après la naissance qu'un amas de débris entre la limitante externe et l'épithélium pigmentaire. Les couches internes de la rétine, à ce stade, se présentent sous un aspect morphologique parfaitement normal.

Après 4 semaines, l'épithélium pigmentaire commence à présenter des modifications, en particulier des zones d'épaississement irrégulier. A partir de ce moment l'évolution de ces lésions rétiniennes subit un ralentissement important et s'étend en général sur plusieurs mois. Pendant cette période on ne note qu'une discrète prolifération gliale et un morcellement de l'épithélium pigmentaire qui disparaît à certains endroits, alors qu'à d'autres il s'épaissit considé-

rablement.

Puis apparaissent des lésions dans les couches internes de la rétine, à savoir une réduction progressive du nombre des cellules ganglionnaires et des cellules bipolaires. La choroïde, normale au début, commence elle aussi à présenter des modifications pathologiques, sous forme d'une atrophie plus ou moins marquée. Il se forme des trousseaux fibreux qui s'étendent à travers toute l'épaisseur de la rétine qu'ils solidarisent avec la choroïde.

En 1961, De ROBERTIS et LASANSKY étudient au microscope électronique la différenciation des cellules visuelles chez des souris de la souche C3H, animaux atteints de la même dégénérescence rétinienne que ceux du "Basler Laboratoriumsstamm". Les premières modifications pathologiques apparaissent, au microscope électronique, le lle jour après la naissance, au niveau de l'article interne des photorécepteurs. C'est la formation exubérante d'un matériel vésiculaire et l'accumulation de particules denses ressemblant aux grains de RNA qu'on y trouve normalement, qui caractérisent les premiers stades de cette différenciation. Progressivement le cytoplasme se densifie et se charge de ces particules. La croissance de l'article externe se fait aussi de façon désordonnée, par la formation exubérante et anormale des sacs membraneux qui envahissent le cil primitif, connectant article interne et externe, et finissent par le faire disparaître. A un stade ultérieur, les altérations mitochondriales, par vacuolisation et lyse, deviennent de plus en plus apparentes. A l'autre extrémité de la cellule visuelle, le développement de la jonction synaptique, qui débute normalement, va également être le siège de profondes altérations, entraînant une lyse des vésicules synaptiques.

On peut dire que l'ensemble du processus de différenciation de la cellule visuelle, chez les animaux atteints de cette rétinose spontanée, se fait de façon exubérante et désordonnée et aboutit à l'involution et à la mort cellulaire.

Ces observations confirment donc la thèse de la dégénérescence hérédditaire du neuro-épithélium chez les souris de la souche C3H et du "Basler Laboratoriumsstamm" et infirment celle de l'agénésie primaire.

Ces données de microscopie électronique concordent parfaitement avec les résultats électro-physiologiques obtenus par NOELL, en 1958.

Malgré l'apparition précoce de la dégénérescence, au cours même des derniers stades de la différenciation de la cellule visuelle, le développement des potentiels ERG se fait à la même période que pour les souris normales. Dès le 11e jour après la naissance, un ERG peut être enregistré, son amplitude croissant jusqu'au 15e jour, parallèlement à la différenciation des photorécepteurs. A partir de ce moment les potentiels diminuent à nouveau d'amplitude, pour disparaître complètement entre le 20e et le 28e jour, lorsque les couches externes de la rétine ont totalement involué.

Ces enregistrements ERG sont en fait anormaux dès leur apparition. En effet ils se différencient des tracés normaux par la faible amplitude de l'onde a, le temps de latence plus long pour l'onde b et enfin par le seuil de réponse beaucoup plus élevé. Ces anomalies ne peuvent s'expliquer par une maturation rétinienne arrêtée ou retardée, ni par une diminution du nombre des éléments responsables de l'élaboration des potentiels ERG. Elles traduisent le fonctionnement anormal de la cellules visuelle dû à une pertur-

bation des mécanismes qui sont à la base de l'excitation visuelle. Dès le début de sa différenciation, la cellule photoréceptrice est dans l'impossibilité de maintenir son intégrité fonctionnelle et structurale, malgré le développement de tous les mécanismes nécessaires à l'excitation visuelle, comme en atteste l'apparition des potentiels ERG. Cette déficience cellulaire devient apparente et conduit à la mort de la cellule, au moment où celle-ci subit les modifications biochimiques de sa différenciation.

L'étude fonctionnelle de ces rétines adultes, entièrement dépourvues de cellules visuelles photoréceptrices, a été faite sur les souris "rodless" par KEELER et par HOPKINS. Se basant sur des tests de réflexes conditionnés, KEELER arrive à la conclusion que ces animaux "rodless" sont entièrement aveugles, ce qui concorderait parfaitement avec l'absence immuable des potentiels ERG. HOPKINS par contre conclut à l'existence d'une perception visuelle chez ces souris, à la suite d'expériences de dressage, tout en admettant qu'elle est moins nuancée que chez les animaux normaux.

En 1953, KARLI a repris cette étude sur des souris du "Basler Laboratoriumsstamm". Il a pu démontrer que chez ces animaux, entièrement dépourvus de cellules visuelles, l'éclairement n'entraînait jamais l'apparition de potentiels ERG. Ce fait a été confirmé par NOELL (1958) ainsi que par FRANCOIS et ses collaborateurs (1958). Ces animaux présentent par contre une réaction pupillaire à la lumière, dont les caractères (seuil, vitesse et temps de latence) sont plus proches de ceux d'un véritable réflexe que de ceux d'une contraction irienne par stimulation photique directe. Des expériences de dressage faites à l'aide d'une "boîte à choix" ont montré que ces souris étaient sensibles aux sti-

mulations photiques, car elles sont capables d'effectuer une discrimination entre 2 plages éclairées, ne différant que par leur orientation dans l'espace (KARLI, 1954). La sensibilité visuelle spectrale de ces animaux est sensiblement voisine de celle des souris normales, avec la différence pourtant que les seuils de sensibilité sont environ cent mille fois plus élevés (BONAVENTURE et KARLI, 1961).

Les essais de mise en évidence de la rhodopsine au niveau de la zone de contact, mal définie, entre l'épithélium pigmentaire et les couches rétiniennes internes chez les souris anormales adultes, par la méthode histochimique élaborée par KARLI, sont toujours restés négatifs. Par ailleurs, en 1961, LEVY a pu montrer que la plexiforme interne de ces rétines dépourvues de cellules visuelles présente une activité cholinestérasique normale, condition nécessaire à une transmission cholinergique normale entre les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires.

II. - QUELQUES HYPOTHESES PATHOGENIQUES CONCERNANT LES RETINOSES SPONTANEES.

Après avoir décrit les rétinoses spontanées du Chien, du Rat et de la Souris, toutes semblables entre elles et toutes très voisines de la rétinite pigmentaire humaine, il se pose le problème de leur pathogénie. Quelle est la cause de cette dégénérescence brutale et élective, survenant au moment même où ces cellules sont en pleine différenciation?

Comme nous l'avons déjà vu, deux hypothèses peuvent être envisagées :

- soit une atteinte primaire du neuro-épithélium, une abiotrophie de la cellule visuelle
- soit une atteinte consécutive à un trouble nutritionnel par lésion de la choriocapillaire ou de l'épithélium pigmentaire, dont dépendent étroitement les couches rétiniennes externes, avasculaires.

Déjà en 1890 et 1891, WAGENMANN avait pensé trouver un argument en faveur d'une étiologie vasculaire de la rétinite pigmentaire humaine, en montrant que la section des artères ciliaires provoquait des lésions dégénératives analogues chez l'animal. Mais en 1938, NICHOLLS réfute cette hypothèse en démontrant que pour obtenir une dégénérescence rétinienne il fallait sectionner au moins les 2/3 des artères ciliaires. Par ailleurs les lésions ainsi produites touchent simultanément les cônes et les bâtonnets, alors que dans la dégénérescence spontanée l'involution des bâtonnets précède toujours celle des cônes. Une ischémie globale de la rétine, soit par section de tous les vaisseaux, soit par forte augmentation de la pres-

sion intraoculaire, lèse en premier les couches rétiniennes internes, avant l'apparition d'altérations morphologiques au niveau des cellules photoréceptrices (SMITH et BAIRD, 1952).

Comme l'ont montré les travaux de SILVA PINTO et de ses collaborateurs (1959), une dégénérescence généralisée du neuro-épithélium ne peut provenir d'une obstruction localisée des artères ciliaires courtes postérieures, car ces artères se conduisent du point de vue fonctionnel comme des vaisseaux terminaux, la choriocapillaire ne jouant pas le rôle anastomotique qu'on lui attribue classiquement.

L'éventualité d'une lésion de la choriocapillaire semble pouvoir être également écartée. En effet, dans toutes les rétinoses spontanées que nous avons passées en revue, les modifications choroïdiennes ne deviennent histologiquement décelables qu'à un stade tardif, alors que l'involution des cellules visuelles est déjà très avancée. LEVY (1961) a pu montrer, par des méthodes histochimiques appropriées, qu'avant l'installation du processus dégénératif et pendant son évolution la choriocapillaire présentait des activités phosphatasiques et estérasiques normales. Dans la mesure où ces activités enzymatiques peuvent être considérées comme spécifiques d'un métabolisme normal et d'une bonne perméabilité des parois vasculaires l'hypothèse d'une lésion de la choriocapillaire peut être écartée.

Par ailleurs, des cultures in vitro de rétines provenant de souris de la souche C3H ont permis de retrouver toutes les lésions histologiques caractéristiques de cette dégénérescence spontanée (SIDMAN, 1961).

Un deuxième groupe d'hypothèses pathogéniques, tend à considérer la lésion de la cellule visuelle comme l'élément

pathologique primaire. Selon l'une de ces hypothèses, les stimuli lumineux provoqueraient l'accumulation, au sein de la cellule, d'une substance nocive, qui normalement est neutralisée. Cette anomalie fonctionnelle serait donc à la base des lésions structurales de la dégénérescence. KARLI, en 1952, a pu infirmer cette hypothèse, en montrant que des souris élevées à l'obscurité totale, donc préservées de toute stimulation photique, subissaient les mêmes phénomènes dégénératifs que les animaux élevés à la lumière.

De nombreux auteurs (DOWLING et WALD, 1961; WALD, 1960; SIDMAN, 1961; DOWLING et GIBBONS, 1961; DOWLING et SIDMAN, 1962) ont voulu incriminer un trouble du métabolisme de la rhodopsine dans la genèse de ces dégénérescences rétiniennes survenant spontanément chez certaines espèces animales .

On sait en effet, depuis les travaux de JOHNSON (1943) confirmés par ceux de MANN et collaborateurs (1946) et par ceux de DOWLING et GIBBONS (1962), que des animaux soumis à un régime carencé en Vit. A présentent assez rapidement une involution des couches externes de la rétine. Chez le Rat par exemple, les lésions apparaissent après deux mois de carence vitaminique, débutent au niveau des segments externes des photorécépteurs et aboutissent à la disparition complète des cellules visuelles. Au microscope électronique la dégénérescence commence par un gonflement et par la formation de vésicules au niveau des segments externes. Les potentiels ERG diminuent, puis disparaissent, parallèlement à la concentration de la rétine en rhodopsine. L'analogie entre ces dégénérescences par avitaminose A et les dégénérescences spontanées est donc frappante, tant du point du vue morphologique que fonctionnel.

La rétinose apparaissant chez les animaux jeunes, encore nourris par leur mère, on pouvait penser qu'une carence en Vit. A du lait maternel était à la base des lésions rétiniennes chez le jeune. Mais ces lésions oculaires n'apparaissent que si l'avitaminose maternelle est très sévère, entraînant alors le plus souvent une résorption du foetus (JACKSON et KINSEY, 1946). L'administration de Vit. A à des femmes du "Basler Laboratoriumsstamm" ayant mis bas, ainsi qu'à leurs petits, entre le 8e et le 21e jour après leur naissance, n'a pas empêché le développement de lésions dégénératives, absolument identiques à celles de souris du même âge, non traitées (KARLI, 1952 et 1954). L'étude de l'apparition de la rhodopsine, par la méthode de KARLI, a montré que le pourpre rétinien se localisait chez ces animaux surtout à la surface de l'épithélium pigmentaire, alors qu'au niveau de l'article externe en voie de différenciation sa concentration est faible (KARLI et LEVY, 1961). La question de savoir si cette faible synthèse de rhodopsine par la cellule visuelle et si sa localisation anormale au niveau de la surface de l'épithélium pigmentaire constituent la cause ou une conséquence de la dégénérescence cellulaire, reste toujours posée.

Si nous considérons le mécanisme de formation de la rhodopsine (ADLER, 1959) nous voyons que la Vit. A, sous forme de son aldéhyde, le 11-cis-rétinène ou néo-b-rétinène, se combine à une protéine spéciale, l'opsine, pour former le pourpre rétinien. La transformation de la Vit.A en 11-cis-rétinène se fait par déshydrogénation et isomérisation. Une première hypothèse est que la rétine des animaux atteints de dégénérescence est dans l'impossibilité de faire cette transformation (CHATZINOFF, MILLMAN, OROSHNIK et [illegible], 1958). Les cultures de rétine in vitro (SIDMAN, 1961) vont à l'en-

contre de cette hypothèse, car l'adjonction au milieu de culture de quantités même importantes de 11 - cis - rétinène ne n'empêche pas la dégénérescence cellulaire. WALD (1961) pense que le fait pathologique réside dans la non-utilisation par la cellule photoréceptrice du 11 - cis - rétinène due à une absence ou une impossibilité de synthèse de l'opsine. Mais en l'absence de cette protéine, l'élaboration par la cellule visuelle d'un prolongement externe ne peut se faire; or les données de microscopie optique et électronique montrent la différenciation d'un segment externe.

SIDMAN (1961) enfin propose une troisième hypothèse, selon laquelle la molécule d'opsine, bien que présente, serait inutilisable, car de forme anormale. Il s'agirait d'une erreur dans la synthèse de cette protéine, qui rendue inutilisable par cette anomalie, disparaîtrait, entraînant l'effondrement des structures déjà différenciées.

Quoiqu'il en soit, nous voyons que dans ce domaine de nombreuses investigations restent à faire et qu'elles apporteront peut-être la solution au problème des dégénérescences rétiniennes héréditaires.

Si nous nous tournons maintenant vers le métabolisme énergétique de la rétine, plusieurs autres hypothèses pathogéniques apparaissent :

Depuis les travaux de WARBURG, en 1924, on sait que la rétine a un métabolisme intense, tant aérobie qu'anaérobie, ce dernier étant beaucoup plus important que pour les autres tissus de l'organisme. La dégradation du glucose se fait suivant le classique cycle de KREBS et le cycle de l'acide lactique. Par ailleurs on a pu montrer que tous les enzymes glycolytiques et respiratoires nécessaires étaient pré-

sents au niveau des articles internes des bâtonnets.

Une première éventualité à envisager pour expliquer les dégénérescences rétiniennes héréditaires, serait un trouble génétique de l'activité glycolytique des cellules visuelles.

Le Monoïodacétate de Na, inhibiteur fermentaire, détermine par blocage de la glycolyse non seulement des troubles fonctionnels, mais encore d'importantes modifications structurales au niveau de la rétine. C'est ainsi que KARLI (1952 et 1954), par des injections de Monoïodacétate chez le Lapin, a pu reproduire des lésions rétiniennes semblables à celles qui se produisent spontanément chez certaines espèces animales. En effet l'examen histologique montre, 24 heures après l'injection, une dégénérescence des bâtonnets précédant toujours celle des cônes. Les articles externes gonflent et se fragmentent. Puis la granuleuse externe et l'épithélium pigmentaire sont atteints à leur tour. La couche des grains externes, aux noyaux pycnotiques, est envahie par une prolifération des cellules de MULLER, venant de la granuleuse interne, et par des cellules de l'épithélium pigmentaire qui est hypertrophié et hyperplasié. Ce phénomène dégénératif, mais jamais inflammatoire, peut aboutir à la destruction totale de la rétine qui, sur de grandes étendues, est réduite à sa limitante interne. Ces résultats concordent dans l'ensemble avec ceux obtenus chez le Singe, le Chat et le Lapin par NOELL (1953) et par BABEL et ZIV (1956) chez le Lapin. Chez le Rat, GRAYMORE et TANSLEY (1959) ont obtenu des résultats analogues par le Monoïodacétate additionné de Malate ou de Pyruvate de Na.

Un blocage de la glycolyse, en l'occurence par le Monoïodacétate de Na, peut donc entraîner des lésions dégé-

nératives identiques à celles des rétinoses spontanées.

Plus récemment, des auteurs se sont attachés à étudier directement le métabolisme énergétique, aérobie et anaérobie, de la rétine, chez le Lapin normal (NOELL, 1958) et chez le Rat normal et anormal (GRAYMORE, 1959 et 196o; WALTERS, 1959; BROTHERTON, 1962). Chez le Rat normal ainsi que chez le Lapin, l'activité glycolytique de la rétine augmente considérablement durant les quinze premiers jours après la naissance. Cet accroissement du métabolisme énergétique chez le Rat est surtout marqué entre le 10e et le 14e jour, période pendant laquelle se fait la différenciation des segments externes des cellules visuelles. A 17 jours, la rétine est totalement développée, tant du point de vue morphologique que biochimique. L'activité respiratoire du tissu rétinien suit une courbe parallèle à celle de l'activité glycolytique; c'est ainsi qu'elle double entre le 9e et le 16e jour après la naissance

Chez le Rat présentant une rétinose spontanée, l'activité glycolytique évolue normalement jusqu'à la fin de la troisième semaine (WALTERS, 1959; GRAYMORE, 1960,) puis diminue rapidement pour atteindre un niveau voisin de celui de la rétine immature de moins de lo jours d'âge. Quant à l'activité respiratoire, elle évolue normalement jusqu'à la fin de la 5e semaine puis s'effondre également.

Il est donc difficile de dire si cette brusque baisse du métabolisme énergétique de la rétine est la cause ou la conséquence de la dégénérescence des cellules visuelles, d'autant plus qu'au microscope électronique les premières modifications pathologiques apparaissent déjà au 12e jour après la naissance. En 1962, J. BROTHERTON, étudiant l'effet de certains métabolites sur la glycolyse anaérobie de la rétine chez le Rat atteint de l'anomali h

Rat atteint de l'anomalie héréditaire, a pu montrer un certain nombre de différences fondamentales avec la rétine normale. C'est ainsi que chez le Rat anormal l'activité glycolytique anaérobie est moins importante, déjà au 12e jour après la naissance, c'est à dire avant la différenciation complète des cellules visuelles. D'autre part, il semble exister un blocage dans le cycle glycolytique anaérobie, blocage qui se situerait après la formation du fructose 1,6 disphosphate.

Selon ces données récentes, il semble donc que le trouble du métabolisme glycolytique des rétines appelées à dégénérer est contemporain des premières modifications structurales pathologiques. Dans ces conditions, il paraît très vraisemblable que cette déficience métabolique soit la cause de la dégénérescence rétinienne et non sa conséquence.

Des études comparées sur la richesse en divers acides aminés des rétines normales et anormales ont permis à J. BROTHERTON (1962) de montrer que la quantité de taurine présente dans la rétine des rats atteints de dégénérescence spontanée, était de loin inférieure à celle des rétines de rats témoins, normaux. Pour un certain nombre d'autres acides aminés, l'auteur a également pu mettre en évidence des différences quantitatives notables. C'est ainsi que les rétines anormales présentent une plus forte teneur en acide aspartique et en glycine, alors que la concentration en acide gamma-amino-butyrique est diminuée. L'auteur conclut que ces différences quantitatives peuvent facilement s'expliquer si l'on admet le manque d'un certain enzyme, comme dans d'autres maladies héréditaires.

Dans l'état actuel de nos connaissances concernant la pathogénie de ces rétinoses spontanées, chez le Chien,

le Rat et la Souris, les deux hypothèses qui semblent les plus valables sont, d'une part un trouble du métabolisme de la rhodopsine, et d'autre part une déficience du métabolisme énergétique de la cellule visuelle.

Des recherches d'histochimie enzymatique comparée, chez la Souris normale et chez la Souris atteinte de l'anomalie héréditaire, nous ont donc paru susceptible d'apporter de nouvelles données dans l'approche de la solution du problème pathogénique posé par les dégénérescences rétiniennes spontanées.

- RECHERCHES PERSONNELLES -

Nos recherches personnelles portant sur une dégénérescence rétinienne spontanée et héréditaire chez la Souris, il convenait de situer cette affection dans le cadre plus large des lésions dégénératives de la rétine survenant spontanément chez certaines espèces animales, en examinant plus particulièrement les diverses hypothèses pathogéniques émises à leur sujet.

Utilisant des méthodes d'histochimie enzymatique dans notre travail, il nous fait élargir l'introduction de cette étude et y inclure un bref aperçu des principaux résultats obtenus à l'aide de ces méthodes sur la rétine normale.

I. - L'HISTOCHIMIE ENZYMATIQUE DE LA RETINE.

L'histochimie enzymatique, plus ou moins abandonnée et discréditée au début de ce siècle, à cause des nombreuses erreurs auxquelles elle avait conduit, mais aussi de par les progrès beaucoup plus spectaculaires de la biochimie et de l'histologie, ne retrouva la faveur des chercheurs qu'après la parution de la monographie de LISON, l'"Histochimie animale", en 1936. Ce regain d'intérêt se traduisit par une efflorescence de nouvelles méthodes histochimiques, de sorte qu'actuellement de nombreux enzymes peuvent être mis en évidence et localisés avec une précision souvent étonnante, grâce à des réactions plus ou moins spécifiques. Mais les résultats obtenus sont souvent trop récents, parfois mêmes contradictoires, pour qu'il soit possible à l'heure actuelle

de se faire une idée précise de la valeur et de la spécificité des méthodes utilisées par les différents auteurs.

Nous nous sommes donc limité à un petit nombre d'enzymes pour lesquels il existe actuellement des réactions valables, bien codifiées et ayant fait leurs preuves.

Nous examinerons successivement trois groupes d'activités enzymatiques :

- les phosphatases alcalines et acides
- les estérases carboxyliques, et plus particulièrement les cholinestérases
- enfin les enzymes d'oxydation, et plus spécialement les déshydrogénases, les diaphorases et les cytochrome - oxydases.

Les phosphatases.

Enzymes hydrolytiques, les phosphatases sont responsables de la libération d'acide phosphorique à partir d'esters mono, di-ou triphosphoriques. Les phosphomonoestérases, les plus importantes pour l'histochimiste, ne sont en général pas spécifiques de l'alcool entrant dans la formation de l'ester, de sorte qu'elles peuvent hydrolyser un grand nombre de phosphates organiques (PEARSE, 1960). La réaction est du type suivant :

$$R - PO^4H^2 + H^2O \rightleftharpoons R - OH + PO^4H^3$$

Selon le pH optimum de la réaction in vitro, on distingue les phosphatases acides et les phosphatases alcalines.

La présence d'une forte activité phosphatasique au niveau des noyaux cellulaires de la rétine est communément

admise par les auteurs ayant utilisé la méthode histochimique de GOMORI (FRANCOIS et RABALY, 1951; De VINCENTIIS, 1951). Travaillant avec une méthode différente sur la rétine de Boeuf, REIS (1954), a trouvé d'autres localisations et a attribué ce fait à la non-spécificité de la méthode de GOMORI.

Actuellement, il ne fait pas de doute qu'au niveau des cellules endothéliales des capillaires et des petits vaisseaux, particulièrement dans la choriocapillaire, il existe une activité phosphatasique intense (LEVY, 1961).

Par ailleurs, de nombreux auteurs (WISLOCKI et SIDMAN, 1954; EICHNER, 1958 et 1962) ont pu mettre en évidence dans les articles internes des photorécépteurs une activité phosphatasique qui, comme celle des cellules ganglionnaires, serait en rapport avec la grande richesse de ces couches en acides ribonucléiques. En effet, dans la rétine humaine on a localisé aux mêmes structures des acides ribonucléiques cytoplasmiques et des phosphatases acides, notamment dans les cellules ganglionnaires et les articles internes des cellules visuelles.

Au niveau de l'épithélium pigmentaire, il existe de même une intense réaction acide et alcaline, mais semble-t-il sans rapport avec des acides nucléiques, car la concentration de ces derniers, y est très faible.

Au niveau des couches internes de la pexiforme interne, c'est à dire aux synapses des cellules bipolaires et des cellules ganglionnaires, l'activité phosphatasique, bien que présente, est beaucoup plus faible et plus diffuse. Certains auteurs ont voulu mettre en rapport la présence de ces enzymes avec la forte teneur en glycogène de cette couche.

Malgré qu'on ne connaisse pas actuellement la signification fonctionnelle exacte de ces phosphatases au niveau de la rétine, il semble cependant très probable qu'elles jouent un rôle important dans le transport d'un grand nombre de substances à travers les membranes biologiques. Ce fait est suggéré, non seulement par leur localisation au niveau de la choriocapillaire, sur toute son étendue et dans toute son épaisseur, mais aussi par leur présence constante au niveau de la paroi intestinale, des plexus choroïdiens, des tubes rénaux, etc.

Si l'histochimie permet une localisation rigoureuse des substances recherchées, elle présente cependant le grand défaut de ne permettre aucune évaluation quantitative précise. Grâce aux progrès des techniques biochimiques (microdosages, coupes de tissus extrêmement fines, homogénéisations), il a été possible d'arriver à des résultats identiques et même de doser un certain nombre de substances pour lesquelles il n'existe pas de réaction histochimique spécifique à l'heure actuelle.

Ainsi, en ce qui concerne les phosphatases, on a pu déterminer au niveau de la rétine, par des méthodes biochimiques, la teneur et la localisation en adénosine-triphosphatase (ATPase), qui joue un rôle de premier ordre dans le métabolisme énergétique des cellules. Ces analyses biochimiques ont montré que la teneur de la rétine en ATPase est élevée (REIS, 1951; SEKOGUTI, 1960.) L'étude histochimique des orthophosphates a permis de localiser ces derniers dans la granuleuse externe, dans les articles externes et internes des cellules visuelles, dans la granuleuse interne, dans les cellules ganglionnaires ainsi que dans la couche des fibres optiques. Se basant sur ces résultats, des auteurs japonais ont pu doser la teneur en phosphatases, et plus par-

ticulièrement en ATPase, des différentes fractions du culot de centrifugation des tissus rétiniens homogénéisés. La teneur en ATPase se répartit de façon décroissante dans les fractions microsomales, mitochondriales et nucléaires. En ce qui concerne les pyrophosphatases, leur concentration est maximale dans la fraction nucléaire.

De BERARDINIS et AURICCHIO (1951) démontrèrent biochimiquement la présence d'ATPase dans l'épithélium pigmentaire de la rétine de Lapin. Par une technique histochimique, ils mirent également en évidence l'existence à ce niveau d'une phosphatase agissant en milieu alcalin.

Les estérases carboxyliques.

Les estérases carboxyliques, autre groupe d'enzymes hydrolytiques, ont en commun la nature de leur substrat, qui est l'ester d'un acide carboxylique. Ce sont essentiellement des aliestérases, des aromestérases, des lipases, des cholinestérases, dont en particulier l'acétylcholinestérase. Suivant le substrat hydrolysé par ces enzymes, on peut les classer en esterases spécifiques (cholinestérases) et en estérases non spécifiques.

L'activité des estérases carboxyliques non spécifiques au niveau de la rétine a pu être localisée dans la couche des cellules ganglionnaires, dans la granuleuse externe ainsi que dans la plexiforme interne (ERANKO, NIEMI et MERENMIES, 1961). La paroi des vaisseaux de moyen calibre présente également cette activité enzymatique, comme a pu le montrer EICHNER (1958) sur la rétine humaine.

Chez la Souris adulte, LEVY a d'autre part pu objectiver une activité estérasique non spécifique le long de la

limitante externe, plus spécialement dans la partie proximale des articles internes des bâtonnets (LEVY, 1961).

La signification fonctionnelle de ces estérases carboxyliques reste à l'heure actuelle encore hypothétique.

Beaucoup plus intéressantes, parce que mieux connues, sont les cholinestérases, estérases spécifiques, et en particulier l'acétylcholinestérase, dont on connaît l'importance primordiale dans la transmission des impulsions nerveuses au niveau de certaines synapses. En 1944, ANFISEN localise la majeure partie des cholinestérases au niveau de la plexiforme interne.

En 1950, KOELLE et FRIEDENWALD, par une méthode histochimique qu'ils ont élaborée, arrivent à la conclusion que les éléments les plus riches en cholinestérases sont les cellules bipolaires et les cellules amacrines. KOELLE, WOLFAND, FRIEDENWALD et ALLEN, en 1952, confirment ces résultats sur la rétine de Chat. Par la suite, de nombreux auteurs sont arrivés aux mêmes conclusions, et récemment encore ERANKO et collaborateurs (1961) et LEVY (1961) ont localisé l'activité cholinestérasique chez de nombreuses espèces animales au niveau de la plexiforme interne. Ils ont montré que cette activité se situait plus précisément au niveau des deux limites de cette couche, à savoir les cellules ganglionnaires du côté interne et les cellules amacrines du côté externe, et qu'elle était principalement due à l'acétylcholinestérase. Dans la rétine humaine, ces mêmes localisations se retrouvent. Toujours chez l'Homme, EICHNER a en outre montré la présence d'une activité cholinestérasique dans la paroi des petits vaisseaux et au voisinage des articles internes des cellules visuelles (EICHNER, 1958). En ce qui concerne

cette dernière localisation, qui d'ailleurs se retrouve chez la Grenouille (WISLOCKI et SIDMAN, 1954), les avis sont partagés quant à savoir si cette activité enzymatique correspond à la membrane cellulaire des photorécepteurs ou si elle se situe dans les terminaisons des cellules radiaires de MÜLLER. Chez le Rat, par contre, EPLAT et GEREBTZOFF (1956) ne retrouvent cette activité acétylcholinestérasique que dans la plexiforme interne.

La présence de cette intense activité cholinestérasique dans la plexiforme interne de la rétine normale est mise en rapport par la plupart des auteurs avec l'hypothèse d'une transmission cholinergique des impulsions nerveuses à ce niveau.

Quant au rôle des estérases carboxyliques non spécifiques, il reste encore bien obscur. Il semble cependant que la présence de ces enzymes dans les vaisseaux de la choriocapillaire permette de leur attribuer un rôle métabolique, à savoir l'hydrolyse d'un certain nombre de substances, qui par la suite sont transférées vers les couches rétiniennes externes. Ces estérases seraient donc, au même titre que les phosphatases, le témoin d'échanges métaboliques actifs et importants entre la choroïde et la rétine.

Les enzymes d'oxydation.

Ces oxydoréductases, encore appelées ferments respiratoires ont pour rôle la libération de l'énergie nécessaire à la vie cellulaire, par oxydation des substances métaboliques. Ces enzymes peuvent être divisés en deux grands groupes :

- les déshydrogénases : qui oxydent les métabolites en mo-

bilisant l'hydrogène et en permettant son passage sur un autre substrat. La plupart d'entre elles ont pour coenzyme le DPN ou le TPN.

- les oxydases : permettent la ré-oxydation des oxydoréductases aux dépens de l'oxygène moléculaire; ce dernier est activé et peut réagir avec les ions hydrogènes arrachés au substrat par les déshydrogénases.

Toutes ces réactions se font par transfert d'électrons. Suivant leur possibilité de réagir directement avec l'oxygène, ou par l'intermédiaire des cytochromes, les déshydrogénases seront classées en aérobies et en anaérobies.

Toutes les déshydrogénases anaérobies sont spécifiques de leur substrat (DEANE, BARNETT et SELIGMAN, 1960). Parmi les plus importantes nous citerons la succino-déshydrogénase, élément capital du cycle citrique, la lactico-déshydrogénase, intervenant dans la glycolyse anaérobie et l'alcool-déshydrogénase, active dans la glycolyse mais aussi dans le métabolisme du pourpre rétinien.

L'étude de l'activité déshydrogénasique de la rétine, tissu dont la richesse enzymatique est connue (PIRIE et Van HEYNINGEN, 1956), est relativement récente. Dès 1925 cependant, SCHALL avait déjà donné un aperçu complet de l'activité oxydasique au niveau de l'oeil humain. Travaillant sur un matériel considérable, il avait localisé la majeure partie des enzymes d'oxydation dans les articles internes des cellules visuelles. Mais ce n'est que depuis quelques années que l'activité enzymatique de la rétine a fait l'objet d'études systématiques. Tous les auteurs arrivent à la conclusion que ce sont les articles internes des photorécepteurs qui présentent la plus forte activité déshydrogénasique.

La succino-déshydrogénase, pendant longtemps la seule déshydrogénase accessible à l'histochimiste, catalyse l'oxydation réversible de l'acide succinique en acide fumarique. Elle représente avec la malate-déshydrogénase le meilleur témoin du cycle de Krebs.

Chez la Souris, le Rat, la Grenouille, le Cobaye et le Lapin, ERANKO, NIEMI et MERENMIES (1961) trouvent une intense activité succino-déshydrogénasique dans les articles internes des cônes et des bâtonnets. La réaction se localise dans de petites granulations, probablement au niveau des mitochondries.

Dans la plexiforme externe se fait une réaction analogue, également du type granulaire, mais moins intense et uniquement chez le Rat, la Souris et la Grenouille. Chez ces animaux, la plexiforme interne par contre ne présente qu'une faible activité enzymatique.

PEARSE (1961) confirme dans l'ensemble ces localisations, sauf pour les couches rétiniennes internes où cet auteur ne trouve pas de succino-déshydrogénase.

Chez l'Homme, EICHNER (1958) a également localisé cet enzyme au niveau des articles internes des cellules visuelles. La réaction se fait de même, mais beaucoup plus faible, dans la couche des cellules ganglionnaires, dans la granuleuse interne, dans les cellules de MULLER ainsi que dans l'épithélium pigmentaire. Dans les articles internes, l'enzyme n'est présent que dans l'ellipsoïde, siège des mitochondries.

En 1959, COGAN et KUWABARA, étudiant la rétine de plusieurs espèces animales, et en particulier celle de l'Homme, trouvent aussi une activité succino-déshydrogénasique au niveau de l'article interne, dans l'ellipsoïde, mais éga-

lement dans les couches granuleuses et dans la couche des fibres optiques.

Devant l'importance de la réaction au niveau des articles internes des cellules visuelles, les autres parties de la rétine passent au second plan. Il n'est cependant pas étonnant, vu l'étroite relation entre la succino-déshydrogénase et les mitochondries, que cette activité enzymatique puisse se retrouver dans les localisations les plus variables.

La présence de succino-déshydrogénase au niveau de la rétine est également confirmée par les analyses biochimiques. Dosant par des méthodes chimiques l'activité enzymatique de coupes parallèles et horizontales de rétine, LOWRY, ROBERTS et LEWIS (1956) ont démontré l'exactitude des localisations histochimiques.

Grâce aux techniques utilisant les sels de Tétrazolium, il a été possible de situer d'autres déshydrogénases au niveau de la rétine, en particulier celles liées au DPN ou au TPN, leur coenzyme. C'est ainsi qu'on a pu mettre en évidence une lactico-désydrogénase dans les articles internes des photorécepteurs, dans les cellules ganglionnaires et surtout dans les cellules radiaires de MULLER (COGAN et KUWABARA, 1959; NIEMI et MERENMIES, 1960; ERANKO, NIEMI et MERENMIES, 1961). PEARSE (1961) confirme ces résultats, mais émet quelques doutes quant à la localisation de cet enzyme aux cellules de MULLER, que rien ne permet de distinguer des fibres nerveuses ayant également un trajet radiaire. Dans la pexiforme externe l'activité enzymatique se limite à la seule partie externe de cette couche (ERANKO et coll., 1961).

L'alcool-déshydrogénase, intervenant dans la glyco-

se et dans le métabolisme de la rhodopsine, est active dans l'ellipsoïde des articles internes, ainsi que dans les plexiformes (ERANKO et coll., 1961). Suivant certains auteurs la couche des cellules ganglionnaires présenteraient également une forte activité alcool-déshydrogénasique (EICHNER, 1962).

De nombreuses autres déshydrogénase ont encore pu être localisées dans la rétine. Nous n'en citerons que les principales.

La glucose 6 phosphate-déshydrogénase et la 6 phosphogluconate-déshydrogénase, intervenant dans le cycle des pentoses, sont presque exclusivement localisées à l'épithélium pigmentaire et à l'article externe adjacent des cellules visuelles (PEARSE, NIEMI et MERENMIES, 1960).

La malate-déshydrogénase et l'isocitrate-déshydrogénase ayant comme coenzyme le DPN, se trouvent essentiellement dans les cellules ganglionnaire et dans la plexiforme interne, alors que l'isocitrate-déshydrogénase ayant comme coenzyme le TPN est active principalement dans les articles internes des photorécepteurs (PEARSE, 1961).

La glutamate-déshydrogénase se caractérise par sa forte activité au niveau de la plexiforme externe (PEARSE, 1961). Pour un certain nombre de ces enzymes, en particulier pour la glucose-6-phosphate-déshydrogénase, la 6-phosphogluconate-déshydrogénase ainsi que pour la lactico-déshydrogénase, la biochimie a entièrement confirmée cette topographie rétinienne (LOWRY, ROBERTS et LEWIS, 1956; LOWRY, ROBERTS, SCHULZ, CLOW et CLARK, 1961).

Les diaphorases ou ferments jaunes, qui catalysent la déshydrogénation des coenzymes I et II lorsqu'ils sont à l'état réduit, sont des cytochrome-C-réductases. Au niveau

de la rétine, leur principale activité se situe dans les segments internes des cellules visuelles et dans la couche des cellules ganglionnaires (ERÄNKÖ et coll., 1961). Dans les articles internes ces diaphorases se trouvent exclusivement liées à l'ellipsoïde (PEARSE, 1961). En ce qui concerne les autres localisations, elles sont éminemment variables d'une espèce animale à l'autre. C'est ainsi que chez la Souris, la plexiforme externe montre une réaction fortement positive, alors que chez la Grenouille et chez le Lapin, elle est toujours négative. La distribution de ces diaphorases est identique dans une espèce animale donnée, mais peut varier considérablement lorsqu'on passe à une espèce différente.

La cytochrome-C-oxydase, ou ferment rouge de Warburg, catalyse la ré-oxydation du cytochrome réduit, aux dépens de l'oxygène moléculaire. Elle agit comme transporteur d'électrons (POLONOVSKI, 1952). Dans la rétine normale, cet enzyme se situe essentiellement dans les segments externes des photorécepteurs. Au niveau de l'article interne, la réaction, bien que présente, est beaucoup plus faible qu'au niveau de l'article externe. Chez la Souris et chez le Rat, les plexiformes et la couche des cellules ganglionnaires présentent également une réaction positive, alors que chez le Cobaye, la Grenouille et le Lapin, l'activité enzymatique de ces couches est très faible ou nulle (ERÄNKÖ et coll., 1961).

Comme nous venons de le voir, l'article interne de la cellule visuelle, siège de riches agrégats de mitochondries (SJÖSTRAND, 1961), présente une forte activité déshydrogénasique et de ce fait peut constituer une aire métabolique active. Il n'est donc pas étonnant d'y trouver la présence de la cytochrome-oxydase.

Au niveau de l'article externe, la présence de cette

cytochrome-oxydase, donc de phénomènes respiratoires, reste à l'heure actuelle inexpliquée. Par ailleurs, il est surprenant qu'il n'existe pas d'activité déshydrogénasique, et en particulier alcool-déshydrogénasique, au niveau de cet article externe, qui pourtant est considéré comme le lieu de stokage du pourpre rétinien.

La présence des différents enzymes d'oxydation au niveau de la rétine suggère que la principale source d'énergie de ce tissu réside dans le catabolisme du glucose, le rôle de la glycolyse anaérobie étant prédominant par rapport à celui joué par le cycle citrique et celui des pentoses(PEARSE, 1961). En outre, d'après la répartition de ces enzymes, telle qu'elle est mise en évidence par les méthodes histochimiques et biochimiques, il semble que les couches rétiniennes externes, avasculaires, soient essentiellement tributaires de cette glycolyse anaérobie pour couvrir leurs besoins métaboliques.

L'action préférentielle de l'Iodacétate de Na, inhibiteur de la glycolyse, sur la cellule visuelle, semble également confirmer ce fait.

II. - OBJET DES RECHERCHES PERSONNELLES.

Comme nous l'avons déjà vu, certaines espèces animales, en particulier certaines souches de souris, présentent une anomalie héréditaire de la rétine qui consiste en une dégénérescence spontanée frappant de façon élective les cellules visuelles photoréceptrices avec conservation de l'intégrité structurale des autres neurones rétiniens.

Chez la Souris du "Basler Laboratoriumsstamm", qui a

fait l'objet de nos recherches, cette dégénérescence débute entre le 8e et le 10e jour après la naissance de l'animal; six semaines plus tard, la rétine est réduite à ses seules couches internes. Une souche pure de ces souris est élevée à l'Institut de Biologie Médicale depuis 1951. Les animaux témoins provenaient d'une autre souche de souris, normales quant à la structure des tissus oculaires.

D'une première série de recherches histochimiques consacrées au problème pathogénique que soulève le développement d'une semblable anomalie rétinienne, il a été possible de conclure:

1 - qu'il était peu vraisemblable qu'une nutrition déficiente des couches rétiniennes externes par suite d'une altération précoce des propriétés fonctionnelles des parois vasculaires choroïdiennes puisse être tenue pour responsable de la lésion frappant le neuro-épithélium (LEVY, 1961).

2 - qu'au 9e - 10e jour après la naissance de ces animaux, c'est à dire au moment même où s'observent les premiers signes histologiques du processus dégénératif, la rhodopsine apparaissait au niveau de l'article externe des bâtonnets en voie de développement (KARLI et LEVY, 1961).

Dans l'espoir de mettre en évidence la déficience éventuelle d'un système enzymatique, déficience qui précèderait la manifestation des premiers signes histopathologiques de la rétinose, nous avons étudié, chez des souris normales et chez des animaux porteurs de l'anaomalie rétinienne, le développement de quelques activités enzymatiques d'oxydation, intervenant dans le métabolisme du rétinène (alcool-déshydrogénase) ou dans le métabolisme énergétique des cellules visuelles(succino et lactico-déshydrogénase). C'est en effet

dans une viciation de l'une ou de l'autre de ces deux activités métaboliques des cellules photoréceptrices que la plupart des auteurs pensent actuellement pouvoir trouver la clé du problème pathogénique soulevé par ces rétinoses spontanées.

III. - TECHNIQUES UTILISEES.

1 - Bases théoriques de ces techniques.

Pour la mise en évidence des différentes activités enzymatiques d'oxydation, nous avons utilisé la méthode histochimique de PEARSE (1960) aux sels de Tétrazolium.

L'utilisation de ces sels de Tétrazolium dans l'histochimie fut mise au mpoint à la fin du siècle dernier par PECHMAN et RUNGE. Ces sels d'Ammonium quaternaires sont presque incolores et facilement solubles en milieu aqueux. Leur réduction par des catalyseurs biologiques aboutit à la formation d'un dérivé insoluble, coloré en rouge ou en bleu suivant le sel utilisé, le Formazan, dont la ré-oxydation ne peut se faire que par des oxydants chimiques très puissants. Dans les conditions normales qui existent dans les milieux biologiques, la réduction d'un sel de Tétrazolium en Formazan peut donc être considérée comme irréversible.

Durant ces quinze dernières années, un certain nombre de nouveaux sels ont été synthétisés, dont les Formazans, moins solubles, présentent par ailleurs des qualités tinctoriales plus favorables à un examen microscopique. C'est ainsi que dans nos recherches nous avons utilisé le chlorure de 2,2' di-p-nitrophényl-5,5'-diphényl - 3,3' - (3,3' - diméthoxy - 4,4' biphénylène) ditétrazolium ou Nitro - BT.

Le rôle de ce sel dans l'histochimie des déshydrogénase est celui d'un accepteur d'électrons, libérés par l'oxydation du substrat. Ces électrons, s'ils ne sont pas interceptés, vont à l'oxygène moléculaire par l'intermédiaire de toute une chaîne de transporteurs. L'une des principales caractéristiques d'un sel de Tétrazolium est la facilité avec laquelle il est réduit, c'est à dire la facilité avec laquelle il capte les électrons. Cette caractéristique est représentée par son potentiel Redox. Le Nitro-BT, ayant un potentiel extrêmement bas, est donc facilement réductible et de ce fait devient un excellent moyen d'explorer l'activité déshydrogénasique des tissus (PEARSE, 1960).

Les méthodes histochimiques utilisant ces sels de Tétrazolium présentent cependant un certain nombre de points faibles. En premier lieu, la réduction de ces sels peut se faire dans les conditions physiologiques par les groupements SH. Elle aboutit à une coloration faible et uniforme, alors que la réduction enzymatique donne naissance à des dépôts de Formazan granuleux et fortement colorés. En second lieu, il faut souligner la nécessité d'utiliser des coupes de tissu relativement fines, car la pénétration des sels de Tétrazolium est faible et se fait assez lentement. L'emploi de Cryostats, permettant de réaliser des coupes histologiques de quelques μ d'épaisseur, à partir de tissus non fixés, a résolu ce problème.

Par ailleurs, les dépôts de Formazan sont sensibles à la lumière qui les décolore. Les coupes doivent donc être examinées dans les heures qui suivent la coloration histochimique, d'autant plus que le colorant a tendance à diffuser dans le milieu de montage. Les solvants organiques solubilisant les grains de Formazan, on ne peut utiliser pour le

montage des préparations que des milieux aqueux comme la glycérine ou la glycérine-gélatine.

Malgré ces quelques inconvénients, les sels de Tétrazolium restent à l'heure actuelle la méthode de choix dans l'histochimie des enzymes d'oxydation.

La succino-déshydrogénase fut jusqu'il y a quelques années le seul enzyme d'oxydation dont l'activité pouvait être démontrée histochimiquement. Ce ferment, spécifique de son substrat, catalyse l'oxydation réversible de l'acide succinique en acide fumarique :

$$COOH-CH^2-CH^2-COOH \rightleftharpoons COOH-CH=CH-COOH$$

Cet enzyme fait partie des ferments respiratoires. Il catalyse le transfert de l'hydrogène de l'acide succinique du cycle citrique sur le système des cytochromes. Les électrons sont d'abord fixés sur le cytochrome b, puis passent sur le cytochrome c et enfin sur le cytochrome oxydase. L'ensemble de ce système est encore dénommé système succino-oxydasique, dont les enzymes sont étroitement liés aux mitochondries.

La succino-déshydrogénase elle même est un ferment contenant des groupements SH, auxquels est liée l'activité enzymatique. Elle fait partie des Flavoprotéines. D'après certains auteurs elle serait capable de fixer directement l'hydrogène sur certains colorants, sans passer par l'intermédiaire des différents maillons de la chaîne respiratoire. Pour les sels de Tétrazolium cependant, cette éventualité n'existerait pas. La faculté qu'a cet enzyme de réduire certains colorants peut être facilement mise en évidence, en présence de cyanures (KCN ou NaCN), qui inhibent la cy-

tochrome-oxydase, de sorte que le système des cytochromes n'est plus en mesure de jouer le rôle d'accepteur d'hydrogène. Par ailleurs, la succino-déshydrogénase est activée par les ions magnésium. Lorsque le Nitro-BT est utilisé comme accepteur d'électrons, l'action activatrice de ces ions métalliques est cependant minime.

Le pH optimum de la réaction se situe autour de 7,0. Les meilleures conditions d'incubation sont réalisées avec des solutions tampon aux phosphates. C'est la seule réaction déshydrogénasique, actuellement démontrable, qui se fasse sans la présence d'un coenzyme.

La succino-déshydrogénase réalise rapidement et facilement des liaisons avec un certain nombre d'acides carboxyliques. C'est ainsi que l'acide oxaloacétique et l'acide malonique peuvent se combiner avec cet enzyme. Ces acides entrent en compétition avec les molécules d'acide succinique et agissent en tant qu'inhibiteurs du ferment, et ceci à des concentrations faibles. Dans les conditions biologiques normales, l'acide fumarique, formé par l'action de la succino-déshydrogénase, est transformé en acide malonique, en présence de fumarase. L'acide malonique est à son tour transformé en acide oxaloactétique sous l'action d'une malico-déshydrogénase. L'accumulation de ces produits (acide oxaloacétique et acide malonique) aura une influence inhibitrice sur l'oxydation de l'acide succinique. En présence de cyanures il va se former avec l'acide oxaloacétique une cyanhidrine, de sorte que ce mécanisme inhibiteur se trouve bloqué.

L'activité catalytique de la succino-déshydrogénase n'est pour ainsi dire pas influencée par la congélation des tissus, ce qui permet l'emploi d'un cryostat dans le but d'obtenir des coupes très fines, à partir de tissus non fixés.

La fixation en effet supprime toute activité enzymatique.

La lactico-déshydrogénase est une déshydrogénase anaérobie, liée au coenzyme I, le diphosphopyridinenucléotide ou DPN. Celui-ci est responsable du transfert et de la fixation des électrons, provenant de l'hydrogène libéré par oxydation, sur les Flavoprotéines-Cytochrome c réductases ou diaphorases, et de là sur le système des cytochromes. La réduction du colorant histochimique se fait par les Flavoprotéines-Cytochrome c réductases.

Dans la glycolyse anaérobie, le passage de l'acide pyruvique à l'acide lactique s'effectue sous l'influence de la lactico-déshydrogénase et de son apoenzyme, décrit sous le nom de protéine C.

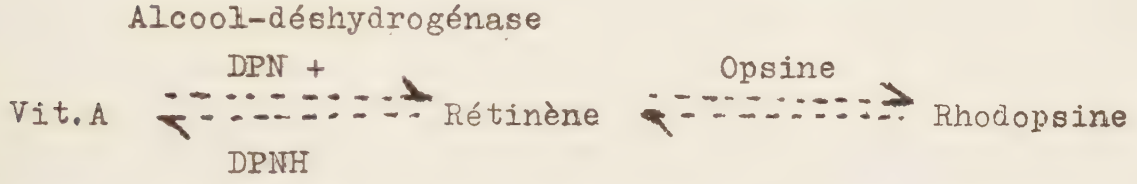
$$CH^3\text{-}CO\text{-}COOH + DPNH^2 \longrightarrow CH^3\text{-}CHOH\text{-}COOH + DPN$$

L'activité de cet enzyme intervient par ailleurs dans l'oxydation aérobie des lactates, qui permet la resynthèse de l'ATP. La mise en évidence de ce ferment se fera donc, comme pour la succino-déshydrogénase, en incubant des coupes fines de tissu congelé dans un milieu contenant le substrat et un sel de Tétrazolium. De plus, ce milieu contiendra du DPN, comme coenzyme, et un cyanure pour inhiber la respiration cellulaire et orienter ainsi le métabolisme énergétique vers la glycolyse anaérobie. Dans les coupes congelées on obtient avec le Nitro-BT des cristaux de Formazan qui ont tendance à diffuser rapidement. Ceci peut être évité par le montage des préparations non déshydratées dans un milieu aqueux, comme la glycérine (PEARSE, 1960).

L'alcool-déshydrogénase, également anaérobie, est comme la lactico-déshydrogénase liée au coenzyme I, le DPN.

Ce ferment, facilement mis en évidence par les réactions histochimiques, ne présente souvent qu'une activité faible dans les tissus.

Agissant dans la glycolyse, l'alcool-déshydrogénase trouve cependant son champ d'application le plus important au niveau de la rétine, où, comme l'a montré WALD, se fait la réaction suivante :



Chez des rats maintenus à l'obscurité, cette activité déshydrogénasique donne une intense réaction colorée au niveau de la rétine.
Sa mise en évidence se fera de la même façon que pour les autres déshydrogénases que nous avons vues.

2 - Utilisation pratique de ces techniques.

Chez les souris atteintes de rétinose héréditaire, de même que chez les animaux témoins normaux, nous avons étudié les activités enzymatiques rétiniennes aux stades suivants : 1, 5, 7, 10 et 15 jours, 3 mois, 10 - 12 mois.

Les animaux présentant la dégénérescence spontanée du neuro-épithélium ont été élevés à la lumière et dans les mêmes conditions que les animaux témoins.

Les yeux sont prélevés, après décapitation des souris, dans les secondes suivant la mort. Immédiatement congelés à la neige carbonique, ces yeux sont placés dans un

cryostat, à une température variant de - 18° C à - 23°C(+). A l'aide de cet appareil, nous avons effectué des coupes sériées de 7 µ d'épaisseur et toujours à la même température. Ces coupes sont ensuite incubées dans des milieux préparés selon les indications de PEARSE, le sel de Tétrazolium utilisé étant toujours le Nitro-BT (PEARSE, 1960).

Pour la succino-déshydrogénase, nous avons utilisé un milieu d'incubation contenant du succinate de Na comme substrat, une solution tampon de pH 7,0 et du Nitro-BT en solution aqueuse. Les coupes sont incubées pendant 30 minutes, à une température de 37°C, puis lavés au sérum physiologique et fixées dans une solution de formol à 10 %. Après un bref rinçage à l'alcool en solution à 15 %, les préparations sont montées dans la glycérine pure et immédiatement photographiées. Les fins précipités bleus de Diformazan indiquent le siège de l'activité succino-déshydrogénasique.

Pour l'alcool-déshydrogénase, le milieu d'incubation contenait de l'éthanol comme substrat, une solution tampon aux phosphates de pH 7,0, du cyanure de Na comme inhibiteur respiratoire, une solution de chlorure de magnésium comme activateur de la réaction et enfin du DPN jouant le rôle de coenzyme; le sel de Tétrazolium est toujours le Nitro-BT. Les coupes sont maintenues dans ce milieu à 37°C, pendant 30 minutes.

(+) Nous remercions vivement Monsieur le Professeur J. VIVIEN d'avoir bien voulu mettre à notre disposition le cryostat du Département des Applications Biologiques du Centre de Recherches Nucléaires de Strasbourg. Nous tenons aussi à exprimer toute notre gratitude pour son aide précieuse à Mme PFLEGER, collaboratrice technique du C.R.N.

Pour la lactico-déshydrogénase, le milieu d'incubation est identique, sauf en ce qui concerne le substrat, qui dans ce cas est le DL-lactate de sodium. La réaction se faisant très rapidement et très intensément, nous n'avons incubé les coupes que pendant 15 minutes. Après la fixation au formol à 10 %, les coupes sont également montées dans la glycérine pure et photographiées.

Le siège des activités alcool et lactico-déshydrogénasiques est marqué par un précipité pourpre foncé de Diformazan.

Afin de vérifier la spécificité des réactions, nous avons incubé des coupes dans le milieu utilisé pour la mise en évidence de la lactico-déshydrogénase, réaction qui est toujours très intense, en supprimant cependant le substrat. Dans ces conditions, nous n'avons obtenu qu'une très faible coloration rose, diffuse, pouvant facilement s'expliquer par la présence physiologique de lactates dans le tissu rétinien. De ce fait les colorations intenses que nous avons observées, tant pour l'alcool-déshydrogénase que pour la succino et la lactico-déshydrogénase, peuvent donc être considérées comme résultant de réactions spécifiques.

IV. - RESULTATS. (Fig.1,2,3).

1 - Souris normale.

En ce qui concerne l'activité enzymatique de la rétine de Souris normale, nous avons observé les résultats suivants :

a - Alcool-déshydrogénase. - Chez l'animal adulte, l'activité de cet enzyme est particulièrement nette au niveau de l'épithélium pigmentaire, un peu plus faible au niveau de l'article interne des bâtonnets et dans la couche plexifor-

me externe. Dès le premier jour après la naissance, l'alcool-déshydrogénase peut être mis en évidence au niveau de l'épithélium pigmentaire et à la limite externe de la couche granuleuse externe, zone où va avoir lieu la différenciation des articles internes des bâtonnets. La réaction est encore faible, quoique décelable avec la méthode histochimique employée.

Au 5e jour après la naissance, l'activité enzymatique, déjà plus marquée, se retrouve aux mêmes localisations.

Entre le 7e et le 10e jour, période au cours de laquelle débute la différenciation des articles externes des photorécepteurs, l'activité alcool-déshydrogénasique subit un accroissement marqué, qui persiste pendant toute la durée de la maturation rétinienne.

b- Succino-déshydrogénase. - Dès la naissance, on observe une activité intense de cet enzyme à la limite externe de la granuleuse externe. Au niveau de l'épithélium pigmentaire, la réaction se fait beaucoup plus faiblement.
Tout au long de la période de différenciation des cellules visuelles, cette activité enzymatique intense persiste au niveau de la zone externe de la couche granuleuse externe.
Chez l'animal adulte, la succino-déshydrogénase se localise essentiellement au niveau de la partie basale de l'article interne des bâtonnets, c'est à dire dans la région la plus proche de la limitante externe. Elle est en revanche beaucoup plus faible aussi bien dans l'épithélium pigmentaire que dans la couche plexiforme externe.

c - Lactico-déshydrogénase. - Comme pour les deux enzymes que nous venons de voir, la lactico-déshydrogénase se localise, les premiers jours après la naissance de l'animal, à l'épithélium pigmentaire et à la limite externe de la granuleuse externe.

Au cours de l'histogénèse des couches rétiniennes externes cette activité enzymatique se développe progressivement au niveau de l'épithélium pigmentaire, de l'article interne des bâtonnets en voie de différenciation, ainsi que dans la plexiforme externe.

Ces trois localisations se retrouvent chez l'animal adulte, l'activité enzymatique étant particulièrement intense au niveau de l'épithélium pigmentaire, très marquée également au niveau des jonctions synaptiques entre les cellules visuelles et les cellules bipolaires, plus faible, quoique nettement décelable, au niveau de l'article interne des bâtonnets.

2 - Souris anormale.

L'étude histochimique de ces mêmes activités enzymatiques chez la Souris atteinte de rétinose spontanée et héréditaire, nous a montré les faits suivants :

a - Alcool-déshydrogénase. - Dès le premier jour après la naissance de l'animal, l'alcool-déshydrogénase peut être mise en évidence dans l'épithélium pigmentaire et au niveau de la limite externe de la couche granuleuse externe, comme chez la Souris normale.
Jusqu'au 10e jour environ après la naissance, aucune différence ne permet de distinguer une rétine normale d'une rétine anormale. L'intensité de la réaction enzymatique est identique dans un cas comme dans l'autre.
Vers le 15e jour, on constate les caryopycnoses au niveau de la granuleuse externe, dont l'épaisseur est déjà sensiblement réduite, mais l'activité alcool-déshydrogénasique persiste toujours dans l'épithélium pigmentaire et dans la zone rétinienne avoisinante.
Chez l'animal adulte, l'activité enzymatique se localise

au niveau de l'épithélium pigmentaire, devenu très irrégulier, et au niveau de la zone de contact, mal délimitée, avec les couches rétiniennes subsistantes.

b - Succino-déshydrogénase. - L'apparition et le développement de cette activité enzymatique se font normalement jusqu'au moment où débutent les modifications dégénératives.
Encore très active dans les cellules visuelles en voie de différenciation, au 10e jour après la naissance, la succino-déshydrogénase ne persiste chez l'animal adulte que dans l'épithélium pigmentaire et au niveau de la zone de contact entre ce dernier et les restes de la plexiforme externe, et ceci de façon très faible, mais encore décelable.

c - Lactico-déshydrogénase. - Pour cet enzyme, l'évolution au cours de la maturation puis de la dégénérescence des couches rétiniennes externes, est absolument superposable à celle des déshydrogénases vue précédemment.
Chez l'animal âgé de trois mois, son activité persiste au niveau de l'épithélium pigmentaire et de la zone rétinienne adjacente.

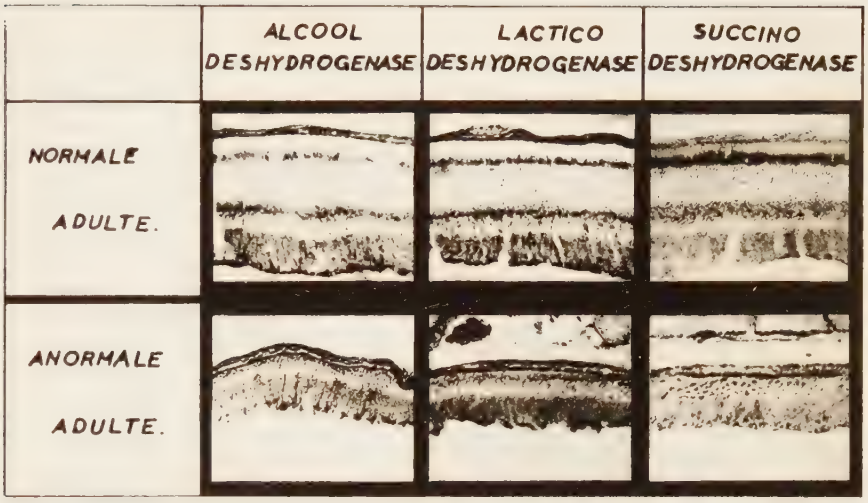


Fig. 1. - Mise en évidence des activités alcool-lactico- et succino-déshydrogénasiques dans les rétines de Souris normale adulte et de Souris anormale adulte. (Grossissement : 65x).

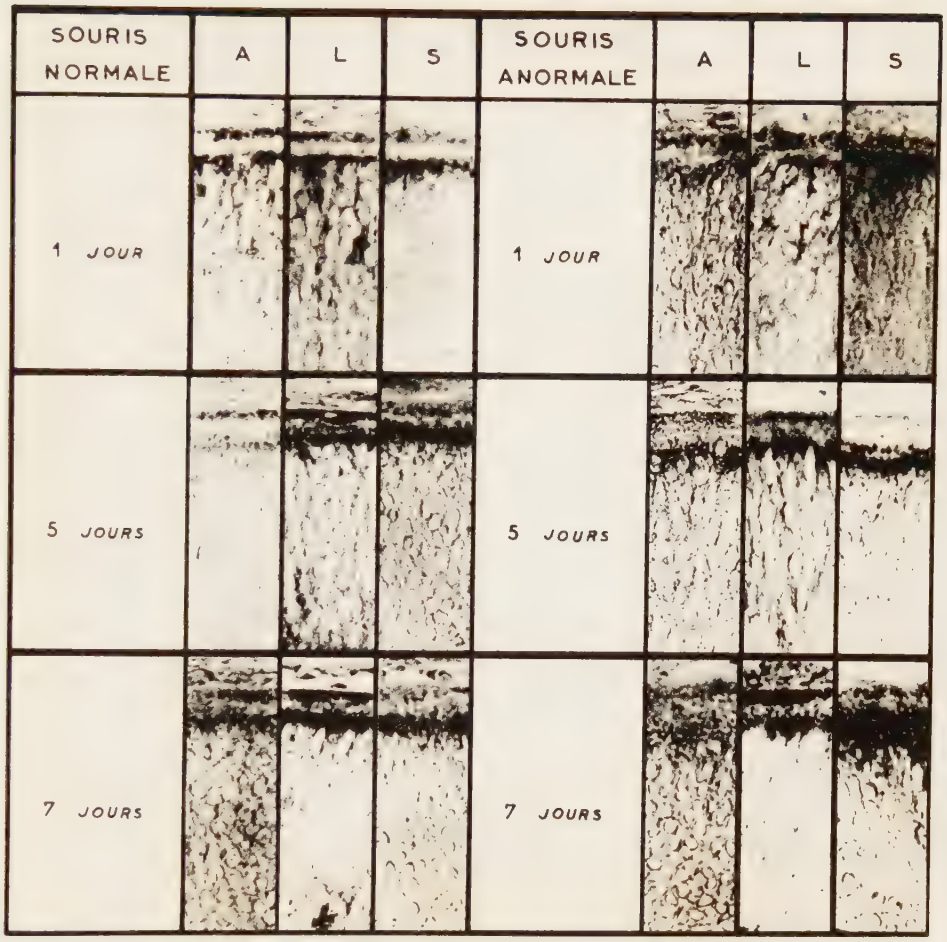


Fig. 2. Mise en évidence des activités Alcool-Lactico- et Succino-déshydrogénasiques dans la rétine de Souris normale et dans la rétine de Souris anormale, aux stades suivants : 1, 5, 7 jours après la naissance. (Grossissement : 480 x).

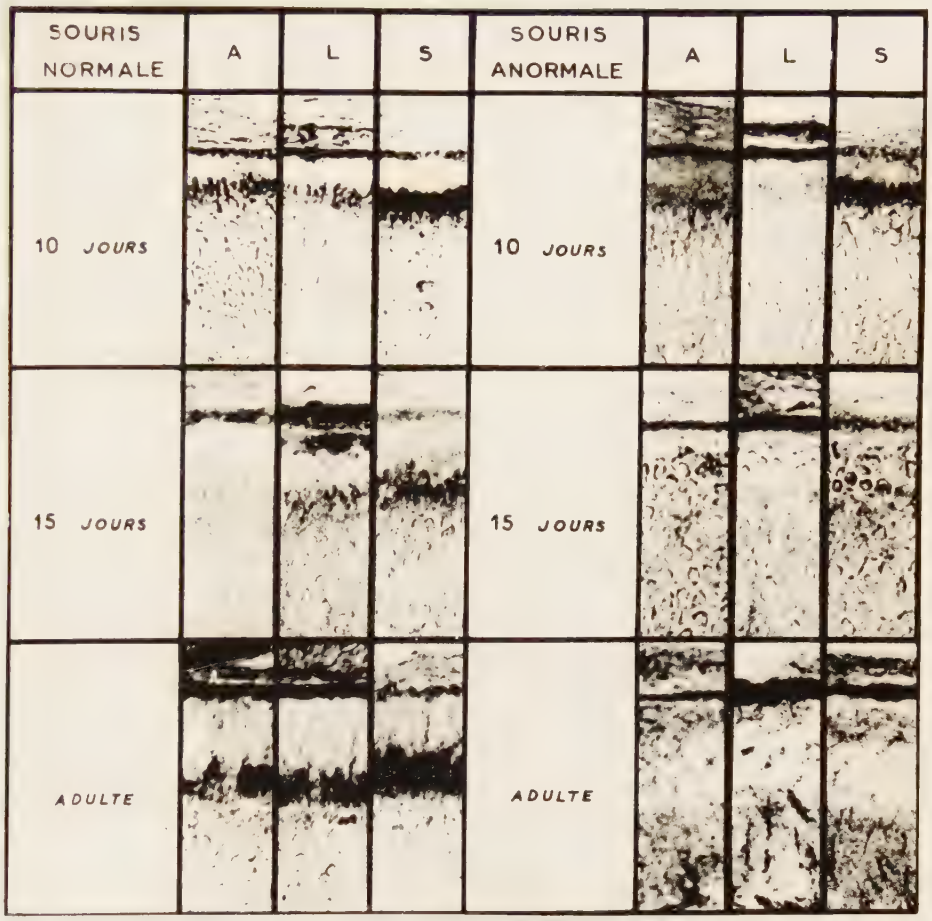


Fig. 3. - Mise en évidence des activités Alcool- Lactico - et Succino-déshydrogénasiques dans la rétine de Souris normale et dans la rétine de Souris anormale, aux stades suivants : lo et 15 jours après la naissance, 3 mois après la naissance. (Grossissement : 48o x).

V. - DISCUSSION DES RESULTATS.

Les résultats obtenus chez la Souris normale adulte concordent dans l'ensemble avec ceux observés par PEARSE (1961) et par ERANKO et ses collaborateurs (1961). PEARSE cependant signale une nette difference quant à l'intensité de la réaction enzymatique chez les animaux vivant à la lumière et chez ceux qui ont été mis à l'obscurité pendant un certain temps.
En ce qui concerne nos expériences, nous n'avons trouvé aucune différence notable dans l'activité enzymatique des rétines éclairées et de celles qui furent maintenues à l'obscurité.
Par ailleurs il faut noter, que si chez l'animal adulte jeune les activités alcool, lactico et succino-déshydrogénasiques de la rétine sont intenses, chez l'animal adulte âgé par contre, ces mêmes activités enzymatiques subissent dans leur ensemble une nette diminution.

Chez la Souris anormale, les résultats obtenus concordent également avec ceux observés chez l'animal normal, tout au moins en ce qui concerne les premiers stades de l'évolution. Comme chez la Souris normale, l'activité de ces trois enzymes d'oxydation subit une diminution notable avec le vieillissement de l'animal.

Dans cette souche de souris atteintes de rétinose spontanée, nous n'avons pas non plus pu objectiver une différence dans l'activité enzymatique des rétines éclairées et de celles maintenues à l'obscurité.

La confrontation de ces résultats avec ceux obtenus chez l'animal normal, n'a donc pas permis de mettre en évidence une déficience quelconque de l'un des trois enzymes d'oxydation considérés au niveau des couches rétiniennes ex-

ternes, ni avant l'installation du processus dégénératif, ni même au cours des premiers jours de son évolution. De plus, dans les rétines anormales adultes, entièrement dépourvues de cellules visuelles photoréceptrices, on observe encore une activité nette de ces trois désydrogénases au niveau de la zone de contact mal délimitée entre l'épithélium pigmentaire et les couches rétiniennes subsistantes.

Parmi les nombreuses hypothèses pathogéniques émises au sujet de ces rétinoses spontanées et héréditaires, nous avons vu que celles qui, à l'heure actuelle, paraissaient les plus vraisemblables, sont celles qui envisagent d'une part un trouble affectant le métabolisme énergétique des cellules visuelles et plus particulièrement leur activité glycolytique, et d'autre part une viciation du métabolisme de la rhodopsine.

En ce qui concerne le métabolisme énergétique de ces rétines anormales, les recherches biochimiques effectuées in vitro ont montré que le trouble profond affectant l'activité glycolytique des cellules visuelles ne se développait qu'après l'apparition des premiers signes histopathologiques de la dégénérescence rétinienne (GRAYMORE, 1959 et 1960). Dans ces conditions il est difficile, sinon impossible, de savoir avec certitude si cette perturbation du métabolisme énergétique est la cause ou au contraire une conséquence de la lésion dégénérative. L'étude histochimique des activités succino- et lactico-déshydrogénasiques des rétines anormales, en montrant la présence de ces enzymes avant le début du processus dégénératif et leur persistance pendant les premiers stades de l'évolution de celui-ci, semble indiquer que la baisse de l'activité glycolytique n'est pas la cause de la dégénérescence et de la disparition des cellules visuelles, mais

plutôt une conséquence de ces processus.

Quant au métabolisme de la rhodopsine, l'étude concernant l'activité alcool-déshydrogénasique indique et confirme l'existence d'une synthèse de pourpre visuel au niveau de ces rétines atteintes de dégénérescence des cellules visuelles photoréceptrices. Ces observations concordent parfaitement avec celles de KARLI, qui par une méthode histochimique a pu mettre en évidence, chez la Souris anormale, la synthèse de rhodopsine au niveau de l'extrémité distale des bâtonnets en voie de différenciation, avant que n'apparaissent les premières modifications dégénératives. (KARLI et LEVY, 1961).

Plus récemment encore DOWLING et SIDMAN sont arrivés aux mêmes conclusions, chez le Rat, à l'aide de méthodes de dosage chimiques (DOWLING et SIDMAN, 1962).

Par ailleurs les expériences de KARLI ont montré que ces souris, privées de cellules visuelles, étaient sensibles à des stimulations photiques, cette perception lumineuse se faisant par l'intermédiaire de la rétine anormale (KARLI, 1954). Bien que par la méthode histochimique élaborée par KARLI pour la mise en évidence du pourpre rétinien, il n'ait pas été possible d'objectiver chez la Souris anormale adulte privée de cellules visuelles, la présence de rhodopsine au niveau de la zone de contact entre l'épithélium pigmentaire et les couches rétiniennes internes, il est cependant possible que la persistance d'une infime quantité de cette substance soit responsable de la perception lumineuse chez ces animaux, perception qui à première vue semble paradoxale.

En définitive il ne semble donc pas que l'on puisse attribuer la dégénérescence élective des cellules visuelles

photoréceptrices, observée chez certaines souches de souris, à une déficience précoce de l'une ou de l'autre des activités alcool-lactico - et succino-déshydrogénasiques prises en considération.

- C O N C L U S I O N S -

S'insérant dans le cadre du problème pathogénique soulevé par la dégénérescence spontanée et héréditaire des cellules visuelles photoréceptrices, observée chez certaines espèces animales, la mise en évidence de trois activités enzymatiques d'oxydation (alcool-, lactico-, et succino-déshydrogénases) fut effectuée dans le but de déceler une déficience éventuelle de l'activité de l'un ou de l'autre de ces ferments.

Ces recherches d'ordre histochimique ont été faites de façon comparative chez des souris normales et chez des souris atteintes de l'anomalie héréditaire, aux différents stades de l'histogenèse rétinienne.

Les résultats suivants ont pu être observés :

1 - En ce qui concerne la rétine de Souris normale, les activités alcool-, lactico- et succino-déshydrogénasiques peuvent être mises en évidence, dès le premier jour après la naissance, au niveau de l'épithélium pigmentaire et de la limite externe de la granuleuse externe. Chez l'animal adulte, ces enzymes montrent leur maximum d'activité dans l'épithélium pigmentaire et dans l'article interne des bâtonnets.

2 - Chez les animaux atteints de l'anomalie rétinienne héréditaire, l'étude de ces mêmes activités enzymatiques montre leur présence non seulement avant l'installation du processus dégénératif, mais même au cours des premiers stades de son évolution. Au fur et à mesure que progresse la dégénérescence des couches rétiniennes

externes, l'observation ne montre aucune modification appréciable de ces activités enzymatiques, qui précèderait nettement dans le temps le développement de l'atteinte morphologique.

La confrontation de ces résultats n'a donc pas permis de trouver une déficience précoce de l'un ou de l'autre de ces trois ferments, au niveau des couches externes de la rétine. Dans ces conditions il semble donc peu vraisemblable qu'une telle déficience soit à la base de la dégénérescence élective des cellules visuelles photoréceptrices.

VU
STRASBOURG, le 14 mai 1963.
Le Président de Thèse :

signé : M. KLEIN.

VU
STRASBOURG, le 15 mai 1963.
Le Doyen de la Faculté de Médecine

signé : R. FONTAINE.

VU et PERMIS d'IMPRIMER
STRASBOURG, le 16 mai 1963.
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université.

signé : J.F. ANGELLOZ.

B I B L I O G R A P H I E

ADLER, F.H. (1959).
The photochemistry of vision; in : Physiology of the Eye; pp. 506 - 525. (3e édition. The C.V. Mosby Company, St.Louis).

ANFINSEN, C.B. (1944).
The distribution of cholinesterase in the bovine retina.
J. Biol. Chem., 152 : 267 - 278.

ARMINGTON, J.C.; GOURAS, P. ; TEPAS, D.I. and GUNKEL, R. (1961).
Detection of the Electroretinogram in Retinitis Pigmentosa.
Exp. Eye Res., 1 : 74 - 80.

BABEL, J. et ZIV, B. (1956)
Recherches sur les dégénérescences rétiniennes expérimentales. Etude histologique et électro-rétinographique.
Ophthalmologica, 132 : 65 - 75.

BALLANTYNE, A.J. and MICHAELSON, I.C. (1962).
Primary tapeto-retinal degenrations; in : Textbook of the Fundus of the Eye; pp.254 - 261. (E.& S. Livingstone, Edinburh).

BONAVENTURE, N. et KARLI, P. (1961).
Sensibilité visuelle spectrale chez des souris à rétine entièrement dépourvue de cellules visuelles photoréceptrices.
C.R. Soc. Biol., 155 : 2015.

BOURNE, M.C.; CAMPBELL, D.A. and TANSLEY, K. (1938).
Hereditary degeneration of the Rat retina.
Brit. J. Ophthal., 22 : 613 - 623.

BROTHERTON, J. (1962)
Studies on the Metabolism of the Rat retina with special reference to Retinitis Pigmentosa.
I. Anaerobic glycolysis.
Exp. Eye Res., 1 : 234 - 245.

BROTHERTON, J. (1962).
Studies on the Metabolism of the Rat retina with special reference to Retinitis Pigmentosa.
II. Amino Acid contend as schown by Chromatography.
Exp. Eye Res., 1 : 246 - 252.

BRÜCKNER, R. (1951)
Spaltlampenmikorscopie und Ophthalmoskopie am Auge von Ratte und Maus.
Docum. Ophthal., 5 - 6 : 452 - 554.

CHATZINOFF, A.; MILLMANN, N.; OROSHNIK, W. and ROSEN, F. (1958)
11 cis Vitamin A in the prevention of retinal rod degeneration. An animal study.
Amer. J. Ophthal., 46 : 205 - 210.

COGAN, D.G. and KUWABARA, T. (1959)
Retinal Deshydrogenases.
Trans. Amer. Ophthal. Soc., 57 : 153 - 157.

COHRS, P. (1933).
Vererbbare Agenesie und Hypoplasie der Neuroepithelschicht der Retina bei albinotischen Mäusen.
Arch. Augenheilk., 107 : 489 - 500.

COLLINS, E.T. (1919)
Diseases of the retina : 1. Abiotrophy of the retinal neuroepithelium or "retinitis pigmentosa".
Trans. Ophth. Soc. U.K., 39, : 165 - 195.

DEANE, H.W.; BARNETT, R.J. und SELIGMAN, A.M. (1960)
Die Dehydrogenasen; in : Handbuch der Histochemie; pp. 51 - 52 (Band VII/1 : Enzyme. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart).

DE BERARDINIS, E. et AURICCHIO, G. (1951).
Sull'idrolisi dell'acido adenosintrifosforico (ATP) nella retina e suo significato biologico.
Ann. Ottalmol., 77 : 430 - 453.

DE ROBERTIS, E. and LASANSKY, A. (1961)
Ultrastructure and chemical organization of Photoreceptors; in : Smelser, G.K., The structure of the Eye; pp. 29 - 49 (Academic Press, New-York).

DE VINCENTIIS, M. (1951).
Ulteriore contributo istochimico allo studio della fosfatasi nei tessuti oculari.
Arch. Ottal., 55 : 3o3 - 328.

DI PAOLO, J.A. and NOELL, W.K. (1962).
Some genetic aspects of celle degeneration in mice.
Exp. Eye Res., 1 : 215 - 220.

DOWLING, J.E. and GIBBONS, I.R. (1961)
The effect of Vitamin A deficiency on the fine structure of the retina; in : Smelser, G.K. The structure of the Eye; pp. 85 - 99 (Academic Press New York).

DOWLING, J.E. and SIDMAN, R.L. (1962).
Inherited retinal dystrophy in the Rat.
J. of Cell Biology, 14 : 73 - 1o9.

DOWLING, J.E. and WALD, G.
On the mechanism of Vitamin A deficiency and night blindness.
Fourth International Congress of Biochemistry : Vol. XI, Vitamin metabolism; pp. 185 - 197 (Pergamon Press - 1958)

The role of Vitamin A acid; in Vitamins and Hormones : Vol. XVIII, pp. 515 - 541 (Academic Press, New York, 1960).

DUKE - ELDER, S.
Primary pigmentary degeneration of retina; in Textbook of Ophthalmology : Vol. III, pp.2765 - 2783 (Kimpton, H., London, 1954).

Electroretinography. Clinical applications; in : System of Ophthalmology : Vol. VII, pp.431 -439 (Kimpton, H., London, 1962).

Degenerations; in : System of Ophthalmology : Vol. VII, pp. 168 - 170 (Kimpton, H., London, 1962).

FICHNER, D.
Zur Histologie und Topochemie der Netzhaut des Menschen.
Z. Zellforsch., 48 : 137 - 187 (1958).

EICHNER, D.
Histochemische Fermentnachweise an Sinnesorganen; in : Graumann, W. & Neumann, K., Handbuch der Histochemie : VII/2, Enzyme, pp.313 - 332 (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1962).

ERANKO, O.; NIEMI, M. and NEREMIIES, E. (1961)
Histochemical observations on Esterases and Oxydative enzymes of the retina; in : Smelser, G.K.
The structure of the Eye; pp. 159 - 171 (Academic Press, New-York).

FRANCESCHETTI, A. aund DIETERLE P. (1957)
Die differential-diagnostische Bedeutung des ERG bei tapeto-retinalen Degenerationen.
Bibl. Ophthal. (Basel), 48 : 161.

FRANCOIS, J.
The differential diagnosis of tapetoretinal degenerations.
Arch. Ophthal. (Chicago), 59 : 88 - 120.

FRANCOIS, J. et RABAEY, M. (1951)
Localisation histochimique de la Phosphatase alcaline dans l'oeil de certains mammifères.
Ann. Oculist. (Paris), 184 : 481 - 497.

FRANCOIS, J.; STEFFENS, R. et DEROUCK, A. (1954)
L'électrorétinoencéphalographie dans la rétinopathie pigmentaire.
Ann. Oculist. (Paris), 187 : 908 - 937.

FRANCOIS, J.; VERRIEST, H. et DEROUCK, P. (1956)
Pathology of the X wave of the human ERG.
Brit. J. Ophthal., 7 : 439 - 443.

FRANCOIS, J.; VERRIEST, G.; RABAEY, M. et DEROUCK, A. (1958)
Une souche de souris dépourvues d'épithélium sensoriel rétinien.
Ann. Oculist. (Paris), 191 : 592 - 597.

GOODMAN, G. and GUNKEL, R.D. (1958)
Familial electroretinographic and adaptometric studies in retinitis pigmentosa.
Amer. J. Ophthal., 46 : 142 - 178.

GRAYMORE, C.

Metabolism of the developing retina. I. Aerobic and anaerobic glycolysis in the developing Rat retina.
Brit. J. Ophthal., 43 : 34 - 39. (1959)

Metabolism of the developing retina. III. Respiration in the developing normal Rat retina and the effect of an inherited degeneration of the retinal neuro-epithelium.
Brit. J. Ophthal., 44 : 363 - 369. (1960).

GRAYMORE, C. and TANSLEY, K.

Iodoacetate poisoning of the Rat retina. I. Production of retinal degeneration.
Brit. J. Ophthalm., 43 : 177 - 185. (1959)

Iodoacetate poisoning of the Rat retina. II. Glycolysis in the poisoned retina.
Brit. J. Ophthal., 43 : 486 - 493 (1959).

HODGMAN, S.F.J.; PARRY, H.B.; RASBRIDGE, W.J. and STEEL, J.D.

Progressive retinal atrophy in dogs : The disease in irish Setters (red); in : Smythe, R.H., Veterinary Ophthalmology, pp. 322 - 335 (Baillière, Tindall et Cox, London, 1956)

JACKSON, B. and KINSEY, V. (1946)

The relation between maternal Vitamin A intake, bloodlevel and ocular abnormalities in the offspring of the Rat.
Amer. J. Ophthal., 29 : 1234 - 1242.

JOHNSON, M.L. (1943)

Degeneration and repair of the Rat retina in avitaminosis A.
Arch. Ophthal. (Chicago), 29 : 793 - 810.

KARLI, P.

Rétines sans cellules visuelles. Recherches morphologiques, physiologiques et physiopathologiques chez les rongeurs.
Arch. Anat. Histol. Embryol., 35 : 1 - 76 (1952)

Etude de la valeur fonctionnelle d'une rétine dépourvue de cellules visuelles photoréceptrices.
Arch. Sci. Physiol., 8 : 305 - 328 (1954).

Contribution expérimentale à l'étude de la pathogénie des rétinoses pigmentaires.
Ophthalmologica, 128 : 137 - 162 (1954).

KARLI P.
Une méthode de coloration histochimique du pourpre rétinien.
Ann. Histochim., 2 : 34 - 40 (1957)

KARLI, P. et LEVY, R. (1961)
Recherches histochimiques sur une dégénérescence héréditaire du neuro-épithélium rétinien chez la Souris.
C.R. Soc. Biol., 155 : 2027.

KARPE, G. (1958)
Indications for clinical ERG.
Arch. Ophthal. (Chicago), 60 : 889 - 896.

KOELLE, G.B. and FRIEDENWALD, J.S. (1950)
The histochemical localization of specific cholinesterase in ocular tissues of the Cat.
Amer. J. Ophthal., 35 : 1980 - 1884. (1952)

LEPLAT, G. et GEREBTZOFF, M.A. (1956)
Localisation de l'acétylcholinestérase et des médiateurs diphénoliques dans la rétine.
Ann. Oculist. (Paris), 189 : 121 - 128.

LEVY, R. (1961)
Contribution à l'étude histochimique d'une rétinose héréditaire chez la Souris.
Thèse n°66, Strasbourg.

LOWRY, O.H.; ROBERTS, N.R. and LEWIS, M. (1956)
The quantitative histochemistry of the retina.
J. Biol. Chem., 220 : 879 - 892.

LOWRY, O.H.; ROBERTS, N.R.; SCHULZ, D.W.; CLOW, J.E. and CLARK,J.
Quantitative histochemistry of retina. II. Enzymes of glucose metabolism.
J. Biol. Chem., 236 : 2813 - 2823. (1961°

LUCAS, D.R.
Retinal dystrophy in the Irish Setter. I. Histology.
J.Exp. Zool., 126 : 357 - 552 (1954)

Inherited retinal dystrophy in the Mouse: its appearence in eyes and retinae cultured in vitro.
J. Embryol. Exp. Morph., 6 : 589 - 592 (1958).

LUCAS, D.R.; ATTFIELD, M. and DAVEY, J.B. (1955)
Retinal dystrophy in the Rat.
J. Path. Bact., 70 : 469 - 474.

MAGNUSSON, H. (1917)
Noch ein Fall von Nachtblindheit beim Hunde.
Graefes Arch. Ophthal., 93 : 1o4 - 411.

MANN, I.; PIRIE, A.; TANSLEY, K. and WOOD, C. (1946)
Some effects of Vitamin A deficiency on the eye of the Rabbit.
Amer. J. Ophthal., 29 : 801 - 815.

NICHOLLS, J.V.V. (1938)
The effect of section of the posterior ciliary arteries in the Rabbit.
Brit. J. Ophthal., 22 : 672 - 687.

NIEMI, M. and MERENMIES, E. (1960)
Cytochemical localization of the oxydative enzyme systems in the retina.
I. Diaphorases and dehydrogenases.
J. Neurochem., 6 : 2oo - 205.

II. Cytochrom oxydase.
J. Neurochem., 6 : 205 - 209.

NOELL, W.
Experimentally induced toxic effects on structure and function of visual cells and pigment epithelium.
Amer. J. Ophthal., 36 : 1o3 - 116 (1953)

Differentiation, metabolic organization and viability of the visual cell.
Arch. Ophthal. (Chicago), 60 : 7o2 - 733 (1958)

PARRY, H.B. (1953)
Degenerations of the Dog retina. II. Generalized Progressive atrophy of hereditary origin.
Brit. J. Ophthal., 37 : 487 - 502.

PARYY, H.B.; TANSLEY, K. and THOMSON, L.C. (1955)
Electroretinogram during development of hereditary retinal degeneration in the Dog.
Brit. J. Ophthal., 39 : 349 - 352.

PEARSE, A.G.E. (1960)
Histochemis ry. Theoretical and applied.
Second edition.
J. and A. Churchill, London.

PEARSE, E. (1961)
Localization of oxydative enzymes in Rat and Chick retina in various physiological conditions; in : Smelser, G.K., The structure of the Eye; pp. 53 - 72 (Academic Press, New-York)

PIRIE, A. and VAN HEYNINGEN, R. (1956)
Biochemistry of the Eye; pp.2o5 - 231 (Blackwell, Oxford).

POLONOVSKI, M.; BOULANGER, P.; MACHEBOEUF, M. et ROCHE, J.
Biochimie médicale; pp.361 (Masson et Cie, Paris 1952).

REIS, J.L.
Phosphatase activity in the ocular tissues.
Brit. J. Ophthal., 35 : 149 - 152 (1951)

Histochemical localization of alcaline phosphatase in the retina.
Brit. J. Ophthal., 38 : 35 - 38 (1954).

RUEDEMANN, A.D. and NOELL, W.H. (1959)
A contribution to the electroretinogram of retinis pigmentosa.
Amer. J. Ophthal., 47 : 564 - 573.

SCHALL, E. (1925)
Das Vorkommen der Nadi-Oxydasen in den Gewebezellen des Auges in seinen verschiedenen Entwicklungsstufen.
Graefes Arch. Ophthal., 115 : 666 - 694.

SEKOGUTI, Y. (1960)
On the ATPase activities in the retina and the rod outer segments.
J.Cell. Comp. Physiol., 56 : 129 - 136.

SIDMAN, R.L. (1961)
Tissue culture studies of inherited retinal dystrophy; in : Diseases of the nervous system; pp. 1 - 7. Monograph Supplement Vol. XXII, N°4.

SJÖSTRAND, F.S. (1961)
Electron microscopy of the retina; in : Smelser, G.K., The structure of the Eye; pp. 1 - 28. (Academic Press, New-York).

SILVA PINTO, M. ; CASTRO CORREIA, J. et COIMBRA, A (1959)
Altérations de la rétine provoquées par les petites insuffisances circulatoires expérimentales choriorétiniennes.
Ophthalmologica, 138 : 274 - 287.

SMITH, G.G. and BAIRD, C.D. (1952)
Survival time of retinal cells when deprived of their blood supply by increased intraocular pressure.
Amer. J. Ophthal., 35 : 133 - 135.

SORSBY, A.; KOLLER, P.C.; ATTFIELD, M.; DAVEY, J.B. and LUCAS, D.
Retinal dystrophy in the Mouse : histological and genetic aspects.
J. Exp. Zool., 125 : 171 - 198. (1954)

TANSLEY, K.
Hereditary degeneration of the Mouse retina.
Brit. J. Ophthal., 35 : 573 - 582 (1951).

An inherited retinal degeneration in the Mouse.
J. Hered., 45 : 123 - 127 (1954).

WAARDENBURG, P.J. (1932)
Progressive periphere Retinal-bsw. Tapetoretinaldegeneration mit Nachtblindheit; in : Das menschliche Auge und seine Erbanlagen; pp. 392 - 413 (Nijhoff, M., Der Haag).

WAGENMANN, A.
Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss der Circulation in den Natzhaut-und Aderhautgefässen auf die Ernährung des Auges, insbesonder der Retina und über die Folgen der Sehnervendurchschneidung.
Graefes Arch. Ophthal., 36 : 1 - 120 (1890).

Beitrag zur Kenntniss der pathologischen Anatomie der Retinitis pigmentosa.
Graefes Arch. Ophthal., 37 : 230 - 242 (1891).

WALD, G. (1961)
General discussion of the retinal structure in relation to the visual process; in : Smelser, G.K., The structure of the Eye; pp. 101 - 115 (Academic Press, New York).

WALTERS, P.T. (1959)
Anaerobic glycolysis in rats affected with retinitis pigmentosa. Its significance in relation to various forms of primary pigmentary degeneration of the retina.
Brit. J. Ophthal., 43 : 686 - 696.

WARBURG, O.; POSENER, K. und NEGELEIN, E. (1924)
Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle.
Biochem. Z., 152 : 308 - 344.

WISLOCKI, G.B. and SIDMAN, R.L. (1954)
The chemical morphology of the retina
J. Comp. Neurol., 101 : 53 - 99.

ZEAVIN, B.H. and WALD, G. (1956)
Rod and cone vision in retinitis pigmentosa.
Amer. J. Ophthal., 42 : 253 - 269.

-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-